

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



TESIS DOCTORAL

**Glicoquímica y reconocimiento molecular: influencia de las
interacciones de apilamiento CH/ π sobre la reactividad de
glicósidos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Laura Montalvillo Jiménez

Director

Juan Luis Asensio Álvarez

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Química Orgánica I



**GLICOQUÍMICA Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR:
INFLUENCIA DE LAS INTERACCIONES DE APILAMIENTO CH/ π
SOBRE LA REACTIVIDAD DE GLICÓSIDOS**

TESIS DOCTORAL

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por

Laura Montalvillo Jiménez

Director

Dr. Juan Luis Asensio Álvarez

Instituto de Química Orgánica General (CSIC)



Madrid, 2019

La presente Tesis Doctoral ha sido realizada en el departamento de Química Bioorgánica (QOB) del instituto de Química Orgánica General del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, bajo la dirección del Dr. Juan Luis Asensio Álvarez.

El trabajo ha estado financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, dentro de los proyectos “Aproximaciones al diseño de nuevos ligandos de ARN basados en carbohidratos: de la química combinatoria dinámica al diseño racional” (CTQ2013-45538-P) y “Estudios sobre reconocimiento molecular de glicósidos: Bases moleculares y optimización de compuestos bio-activos” (CTQ2016-79255), así como por la *Mizutani Foundation for Glycoscience* (17-0045).

Dña. Laura Montalvillo Jiménez ha sido financiada por un contrato de Formación de Personal Investigador (FPI) concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad (convocatoria 2014), referencia BES-2014-070232.



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA
PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Dña. Laura Montalvillo Jiménez, estudiante en el Programa de Doctorado en Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, como autora de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada "Glicoquímica y reconocimiento molecular: Influencia de las interacciones de apilamiento CH/ π sobre la reactividad de glicósidos" y dirigida por Juan Luis Asensio Álvarez.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 12 de Julio de 2019

Fdo.:

AGRADECIMIENTOS.

Aunque a algunos os cueste creerme, esta etapa ha sido de las mejores de mi vida. Probablemente haya centros de investigación más glamurosos en los que trabajar, pero estoy convencida de que en ninguno hay gente tan maravillosa como en el IQOG, donde todo el mundo te recibe con los brazos abiertos, siempre dispuestos a ayudar. Por ello, me gustaría dar las gracias a todo el personal del instituto, que ha hecho que estos años, a veces duros, hayan sido también maravillosos.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi director de tesis, Juan Luis Asensio, la enorme oportunidad que me brindó hace cuatro años, permitiéndome realizar el doctorado bajo su dirección. Gracias por dejarme hacer realidad un sueño, y seguir disfrutando de mi gran pasión. No sé qué me deparará el futuro, pero de momento, “que me quiten lo bailao”. Gracias por ser el jefe que todo el mundo querría tener, por tu comprensión cuando he metido la pata y tu frase “eso pasa hasta en las mejores familias”. En definitiva, gracias por no ser sólo un jefe.

En segundo lugar, me gustaría dar las gracias a mis segundas mamás, M^a José y Toñi. Sin vuestra paciencia y apoyo durante los últimos años de la carrera, no estaría hoy escribiendo estos agradecimientos. Gracias por “desasnarnos” y ayudarnos a volar.

Gracias Ana Gómez por tu buena disposición para ayudar a los demás. Gracias por recibirme siempre con una sonrisa cada vez que te iba a incordiar a la hora del café, sobre todo al principio de la tesis.

Gracias Andrés. Antes de tu llegada recuerdo que alguien me dijo “Andrés es genial, te va a encantar”. Creo que se quedaron bastante cortos... Desde que te incorporaste hemos sido un equipo. Gracias por tu simpatía, por tu ayuda, por tus clases de inglés y por tu cariño. Sin ti este periodo no habría sido ni tan fácil ni tan divertido. Sé que algún día nos tocará separarnos, mi *Mary Poppins*, pero confío en que seguirás en mi vida.

Gracias Ester por acogerme en el laboratorio con los brazos abiertos, por hacerme sentir como en casa desde el primer día y por enseñarme con tanta paciencia, aun estando estresada con la escritura de tu tesis.

Agradecimientos

Gracias a Guille. ¿Qué se puede decir de ti sin quedarse corto? No he conocido a nadie igual... Buena persona, siempre con una sonrisa, dispuesto a ayudar y con un espíritu y una imaginación propias de un niño chico... Gracias por tus cancioncillas inventadas, por tus dibujos de los viernes, por tus abrazos y tus sonrisas. Si la gente tuviese una cuarta parte de tu bondad, el mundo sería perfecto. No sabes lo que he echado de menos este último año tu frasecilla: “¿Dónde está mi Lauriii? Aquíí”.

Me gustaría dar las gracias también a mis niñas preciosas, Elena y Pilar. Conoceros ha sido lo mejor que me ha pasado en años, y aunque no hemos podido estar juntas hasta el final, no hay un solo día en el que no me acuerde de vosotras, de nuestros “aquelarres”, de nuestras risas, de la bata mugrienta de Pilar, de las cancioncillas inventadas para Elena... Gracias por estar ahí siempre, por alegrarme la vida cada vez que estamos juntas, por existir, no hay mejores amigas que vosotras.

Gracias a Patrick. Reconozco que no debe de ser fácil aguantar a una loca, y tú lo has hecho genial... No sé en qué momento pasaste de ser el informático majete del instituto, a ser una persona fundamental en mi vida. Gracias por todos los momentos juntos, por nuestros cafecitos a media tarde, por hincharme a chocolate y, sobre todo, por ser en muchas ocasiones mi paño de lágrimas.

A Carol. Parece mentira que en tan poco tiempo te hayas hecho un huequito tan grande en mi corazón. Qué pena que vaya a tener que matarte... (jeje).

Gracias a todos los investigadores del instituto: Cristóbal, Ágatha, Alfonso, Eduardo, Cristina, José Luis, Clara y por supuesto a Julia, no puedo agradecer más tu ayuda durante esta última etapa de la tesis, gracias por tus consejos.

También me gustaría dar las gracias a todos los compañeros que han pasado por el instituto y por nuestro laboratorio en estos años: Isa, Elma, Víctor, Ana, Luca, Laetitia, Gabrielle, Sylwia, Mitch, Ignace, Rober, Mariano, Irene, Toti, Daniela, Ester M., Sandra, Diego, Antonio, Carlos, Eduardito, y en especial, a mi niño, Miquel, quien en unos pocos meses se convirtió en una persona esencial en mi vida. Y por supuesto, a los que afortunadamente, aún continúan aquí, haciendo el día a día más fácil: Juan, Marina, Marta, María, Raúl, David, Chispi, Alberto, Dianelis, e Isra, gracias por tu amabilidad y tu ayuda. Y por último, gracias a mis compis del 243, Quique y Laura 2, ¡entre todos formamos un gran equipo!

No me puedo olvidar de mis chicos de la Hiedra: Patrick, Quique, Cumella, Felipe, Paco, Mario, Edu Palao y Paquillo, que me acogieron en sus “reuniones de machos” como a “uno” más. Gracias a ellos y a los que se han ido incorporando: Marta, Carol, Gabi, Clara, Martín, Rubén, Cris, Jonathan, Inma, Julia, Tania, Jessy, Eduardito y Miquel, por las risas, los bailes y los berridos en el karaoke.

A mi profe de Zumba, Nuria. No te haces ni idea de lo que me han ayudado tus clases en los momentos de estrés... Gracias también a mis *cheerleaders* Juanlu y Ana, sois geniales.

Al personal de los servicios generales de RMN y masas: May, Elisa, Maite, Chantal, Gemma, Mariajo y Ana. Gracias igualmente a Fermín, Belén, Isabel, Concha y Estrella por vuestra ayuda con los problemas administrativos. Por supuesto, también a la gente de mantenimiento, Antonio y Gregor, y al equipo de limpieza, en especial a Susana y Alveiro; gracias por haberme alegrado las tardes de este último año tan sólo con un saludo.

Por otra parte, me gustaría dar las gracias a mis amigos externos al ámbito laboral por estar ahí siempre, tanto en lo bueno como en lo malo: Abraham, Jalvo, Ile, Cristian y a mi niña Gemma. El hecho de que sigas pensando que aún hago nanopartículas de oro, te hace aún más adorable si cabe.

Y por supuesto, gracias a mi “hermano” Jorge. Porque siempre estás ahí, siempre lo has estado y siempre lo estarás, independientemente del tiempo que pase sin vernos.

Y por descontado, a mi familia:

A mis tíos y a mi prima Paula, a mi familia manchega, en especial a mis “primillos”, y a mi tía Pepita. Gracias por vuestro cariño y vuestros ánimos.

A mi familia política, en especial a mis suegros Juanjo y Carmen y por supuesto a “mi cuñao”, por tratarme como a una más de la familia.

A mis abuelos. Soy incapaz de escribir esto sin llorar. Gracias por haber estado ahí siempre. Gracias Yaya por ser más que una amiga, por permitírmelo todo y darme tanto cariño. Gracias Yayo, por coronarme como tu Reina, por hacerme sentir tan especial, por tus consejos, por convertirme en tu niña mimada y por nuestra complicidad. Aunque te tuviste que ir, sé que aún sigues a mi lado, mi Ángel de la guarda.

Agradecimientos

A mis padres, por vuestro apoyo incondicional, vuestros buenos consejos, y por aguantar mis malos momentos. Gracias mami por apoyarme y confiar en mí, por tu empeño en que persiguiese mis sueños, aunque eso supusiera sacrificarte hasta límites insospechados. Todo el mundo dice que su madre es la mejor... sin duda, no te conocen. Sin ti, hoy no estaría escribiendo esta Tesis, te lo debo todo.

A Pepe, mi vida, mi compañero de viaje. ¿Qué decirte que ya no sepas? Gracias por ayudarme a levantarme cada vez que me tropiezo, por tu paciencia durante la escritura de la tesis, por aguantar mis nervios y mis cambios de humor en estos últimos meses, por hacer que la vida sea mucho más fácil a tu lado. Sin duda, el mejor resultado que he obtenido nunca es compartir mi vida contigo (bueno, y con nuestros niños peludos, en especial con Freia, mi ansiolítico natural). Te quiero.

A mi Ángel de la guarda

Relación de abreviaturas.....	I
Resumen.....	V
Summary.....	VII
1.- INTRODUCCIÓN.....	3
1.1.- APILAMIENTO CARBOHIDRATO/AROMÁTICO Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR.....	3
1.1.1.- Interacciones de apilamiento en complejos proteína/carbohidrato: reconocimiento de glicósidos por lectinas y anticuerpos.....	4
1.1.2.- Interacciones carbohidrato/ácido nucleico: Papel de las interacciones de apilamiento en el reconocimiento de carbohidratos por ácidos nucleicos.	8
1.1.3.- Apilamiento carbohidrato/aromático en química supramolecular: diseño de receptores sintéticos.....	9
1.1.4.- Bases moleculares de la interacción carbohidrato/aromático: Estudios teóricos y experimentales.....	11
1.1.5.- Bases moleculares de la interacción carbohidrato/aromático: Antecedentes del grupo de investigación.....	13
1.1.6.- Interacciones CH/ π en complejos carbohidrato/enzima: Influencia de los anillos aromáticos sobre la reactividad de glicósidos.....	17
1.2.- GLICOSIL-OXOCARBENIOS EN QUÍMICA DE CARBOHIDRATOS: EVIDENCIAS EXPERIMENTALES Y RELEVANCIA MECANÍSTICA.....	20
1.2.1.- Evidencias espectroscópicas en favor de la existencia de cationes glicosilo.....	22
1.2.2.- Evidencias cinéticas.....	25
1.2.3.- Efectos de los sustituyentes sobre la estabilidad de glicosil oxocarbenios.....	29
1.2.4.- Condiciones experimentales: Influencia de disolvente y temperatura.....	33
1.2.5.- Condiciones experimentales: Influencia del aceptor.....	34
1.2.6.- Estudios teóricos.....	36
1.2.7.- Estados de transición tipo glicosil oxocarbenio en reacciones enzimáticas.....	38
2.- OBJETIVOS.....	43

3.-RESULTADOS.....	51
3.1.- DISEÑO DE SISTEMAS MODELO: PRINCIPIOS FUNDAMENTALES.	51
3.2.- SÍNTESIS DE LOS SISTEMAS MODELO I Y II.....	57
3.2.1.- Síntesis de disacáridos: Sistemas modelo tipo I.	57
3.2.1.1.- Metodología general para la síntesis de los disacáridos (Compuestos 1-9).....	57
3.2.1.2.- Síntesis de los donadores de glicosilo A7 y A9	58
3.2.1.3.- Síntesis de los aceptores de glicosilo (B7a, B7b, C10, D5).	61
3.2.1.4.- Síntesis de disacáridos (1-9).....	73
3.2.2.- Síntesis de modelos tipo II.	81
3.2.2.1.-Metodología general para la síntesis de los compuestos 10-19	81
3.2.2.2.- Síntesis de sistemas modelo derivados de manosa y glucosa (compuestos 10-15).	82
3.2.2.3.- Síntesis de derivados de 2-desoxiglucosa 16 y 17	91
3.2.2.4.- Síntesis de derivados de 2-desoxiglucosa “tipo sandwich” 18 y 19	94
3.3.- ESTUDIOS DE REACTIVIDAD.....	97
3.3.1 Reactividad de los modelos tipo I en reacciones de metanólisis.	97
3.3.2.- Comportamiento de los modelos tipo II en reacciones de glicosilación.	107
3.3.2.1.- Estudio de reactividad de los derivados de manosa 10, 12 y 13	110
3.3.2.2.- Estudio de reactividad de los derivados de glucosa 11, 14 y 15	115
3.3.2.3.- Estudio de reactividad de los derivados de 2-desoxiglucosa 16 y 17	125
3.3.2.4.- Estudio de reactividad de los derivados de 2-desoxiglucosa tipo “Sandwich” 18 y 19	129
3.3.3.- Discusion de resultados.	134
4.- CONCLUSIONES.	143
5.- PARTE EXPERIMENTAL.....	149
5.1.- TÉCNICAS GENERALES.....	149

5.2.- PROCEDIMIENTOS GENERALES.....	150
5.3.- SÍNTESIS DE LOS MODELOS TIPO I.....	158
5.3.1- Síntesis de los donadores de glicosilo A7 y A9	158
5.3.2.- Síntesis de los aceptores de glicosilo B7a , B7b , C10 y D5	161
5.3.2.1. Síntesis del aceptor de glicosilo B7a	161
5.3.2.2. Síntesis del aceptor de glicosilo B7b	165
5.3.2.3. Síntesis del aceptor de glicosilo C10	168
5.3.2.4. Síntesis del aceptor de glicosilo D5	174
5.3.3.- Síntesis de disacáridos (1-9).	176
5.4.- SÍNTESIS DE LOS MODELOS TIPO II.....	192
5.4.1.- Derivados de manosa (10 , 12 , 13).....	192
5.4.2.- Derivados de glucosa (11 , 14 , 15).....	202
5.4.3.- Derivados de 2-desoxiglucosa.....	212
5.5.- EXPERIMENTOS EN TUBO DE RMN.....	227
5.5.1.- Glicosilaciones en 2 pasos: Protocolo de pre-activación.	228
5.5.2.- Glicosilaciones en un paso: Activación en presencia de 1 % de CD ₃ OD: Reacciones de metanólisis.....	229
5.6.-GLICOSILACIONES CON DONADORES DE TIPO SULFÓXIDO.....	231
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	247
7.- ANEXO.....	265

RELACIÓN DE ABREVIATURAS.

Å	Angström
Ac	Acetilo
ACN	Acetonitrilo
Ar	Aromático
ARN	Ácido ribonucleico
ax	Axial
Bn	Bencilo
Bz	Benzoílo
CDI-ESI	Fragmentación inducida por ionización electrospray (del inglés, <i>Fragmentation-induced electrospray ionization</i>)
CIP	Par de iones en contacto (del inglés, <i>Contact Ion Pair</i>)
Conf.	Configuración
COSY	Espectroscopía de correlación H-H
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
dd	Doblete de dobletes
ddd	Doble doblete de dobletes
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DFT	Teoría funcional de la densidad
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N, N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido

dq	Doblete de cuádrupletes
dt	Doblete de tripletes
DTBMP	2,6-Di-tert-butil-4-metilpiridina
EDC	<i>N,N</i> -diciclohexilcarbodiimida
EI	Impacto electrónico
EM	Espectrometría de masas
eq	Ecuatorial
equiv.	Equivalentes
ESI	Electrospray
Et	Etilo
Gal	Galactosa
Glc	Glucosa
GS	Grupo saliente
h	Hora
HATU	Hexafluorofosfato de 1-[Bis(dimetilamino)metileno]- 1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i>]piridinio <i>N</i> -óxido
Hex	Hexano
HMBC	Experimento de correlación heteronuclear a varios enlaces (del inglés, <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HMPA	Hexametilfosforamida
HOAt	<i>N</i> -Hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBt	<i>N</i> -Hidroxibenzotriazol
HSQC	Experimento de correlación cuántica simple heteronuclear (del inglés, <i>Heteronuclear Single- Quantum Correlation</i>)
Hz	Hertzio
IE	Impacto electrónico

<i>J</i>	Constante de acoplamiento
<i>k</i>	Constante cinética
<i>K_{rel}</i>	Constante cinética relativa
<i>m</i>	Multiplete
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzoíco
Me	Metilo
MFE	Monofluoroetanol
min	Minutos
MS/MS	Espectrometría de masas en tándem (del inglés, <i>Tandem Mass Spectrometry</i>)
NAP	Naftilo
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NOE	Efecto Nuclear Overhauser
NOESY	Espectroscopía nuclear Overhauser de incremento (del inglés, <i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>)
OTf	Triflorometanosulfonato o triflato
Ph	Fenilo
PMB	<i>p</i> -Metoxibencilo
PMe ₃	Trimetilfosfina
PNP	<i>p</i> -Nitrofenilo
ppm	Partes por millón
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
py	Piridina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singlete
s.a.	Singlete ancho
S _N 1	Sustitución nucleófila unimolecular
S _N 2	Sustitución nucleófila bimolecular

S_NAr	Sustitución nucleófila aromática
S_Ni	Sustitución nucleófila intramolecular o interna
SSIP	Pares iónicos separados por el disolvente (del inglés, <i>Solvent-separated ion pair</i>)
t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
TABBr	Bromuro de tetrabulilamonio
TBAI	Yoduro de tetrabutilamonio
TCA	Tricloroacetoniitrilo
Tf ₂ O	Anhídrido trifluorometanosulfónico o anhídrido triflico
TFA	Ácido trifluoroacético
TFE	Trifluoroetanol
TfOH	Ácido trifluorometanosulfónico o ácido triflico
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina (del inglés, <i>Thin-Layer Chromatography</i>)
TMSCl	Cloruro de trimetilsilano
TMSOTf	Trimetilsililtrifluorometanosulfonato
TMSSPh	Trimetil(feniltio)silano
TOCSY	Espectroscopía de correlación total (del inglés, <i>Total Correlated Spectroscopy</i>)
UV	Ultravioleta visible
V_r	Velocidad de reacción

RESUMEN.

La interacción de apilamiento carbohidrato/aromático constituye un motivo estructural recurrente en el reconocimiento molecular de glicósidos por receptores, tanto naturales como sintéticos. Curiosamente, residuos de triptófano, fenilalanina y tirosina son comunes también en los centros catalíticos de glicosidasas y glicosiltransferasas. Esta observación plantea la cuestión de si, además de contribuir al reconocimiento del sustrato, dichos residuos podrían asistir la formación o ruptura de enlaces glicosídicos mediante la estabilización de intermedios o estados de transición catiónicos, a través de interacciones CH/ π . Si bien la relevancia del apilamiento carbohidrato/aromático en el reconocimiento molecular de glicósidos es incuestionable, su impacto sobre la reactividad de los mismos es, a día de hoy, desconocido.

Con el objetivo de abordar experimentalmente esta cuestión, en la presente tesis doctoral se ha empleado una aproximación química basada en el diseño, síntesis y evaluación de un buen número de sistemas modelo, cuyo rasgo distintivo es la presencia de una unidad donadora o un glicósido lábil involucrado en interacciones de apilamiento con un anillo aromático. Para nuestro estudio se han considerado glicósidos reactivos con diferentes configuraciones en posiciones clave, así como sistemas caracterizados por geometrías de apilamiento alternativas y diferentes propiedades dinámicas. Los modelos sintetizados se han ensayado en reacciones de glicosilación o solvolisis, utilizando la Resonancia Magnética nuclear (RMN) como herramienta clave para la monitorización del proceso y la caracterización de intermedios. Dichas tareas se han visto facilitadas, en ocasiones, mediante la utilización de sistemas etiquetados en ^{13}C .

Los resultados obtenidos subrayan la influencia opuesta que las interacciones de Van der Waals y las fuerzas coulómbicas ejercen sobre la reactividad de los complejos carbohidrato/aromático. Así, dependiendo del balance entre ambas, las plataformas aromáticas pueden ejercer una gran diversidad de efectos que van desde la inhibición de la reacción a la catálisis. Más concretamente, bajo condiciones de reacción más disociativas, tipo $\text{S}_{\text{N}}1$, la combinación de donadores de 2-desoxi-glucopiranosos con plataformas aromáticas óptimamente posicionadas ha permitido, por vez primera, la observación experimental de aceleraciones en la velocidad de glicosilación promovidas por interacciones catión/ π . Curiosamente los resultados indican que,

además de favorable, la interacción glicosil oxocarbenio/aromático debe ser altamente dinámica. Así, el sistema aromático parece proporcionar un entorno local más propicio para el desarrollo de carga positiva, en lugar de establecer un complejo de geometría definida. Los resultados obtenidos arrojan luz sobre la modulación de reactividad ejercida por las interacciones de apilamiento y tienen implicaciones tanto en organocatálisis como en el diseño de nuevas enzimas.

A pesar de su relevancia, tanto desde una perspectiva fundamental como aplicada, el presente trabajo representa el primer estudio experimental sistemático realizado sobre este tema.

SUMMARY.

Carbohydrate/aromatic stacking represents a recurring key motif for the molecular recognition of glycosides by either natural or synthetic receptors. Intriguingly, tryptophan, tyrosine and phenylalanine residues are also common within the catalytic sites of glycosidases and glycosyl transferases, prompting the question of whether they might also assist the cleavage or formation of glycosidic bonds by stabilizing positively charged oxocarbenium-like intermediates/transition states through cation/ π interactions. While the significance of aromatic stacking on glycoside recognition is undisputable, its impact on the reactivity of glycosyl donors is yet to be explored.

In order to address this issue, we have employed a chemical approach based on the design, synthesis and evaluation of ca. twenty model systems, comprising a wide range of glycosidic donor/aromatic complexes, in conjunction with the extensive use of NMR as a key monitorization and detection tool, facilitated in particular cases by the employment of ^{13}C -labelled models. For our analysis, different stacking geometries and dynamic features, anomeric leaving groups, sugar configurations and reaction conditions were explicitly considered.

The obtained results underline the opposing influence exerted by van der Waals and coulombic forces on the reactivity of the carbohydrate/aromatic complex: depending on the outcome of this balance, aromatic platforms can indeed exert a variety of effects, stretching from reaction inhibition all the way to reactivity enhancements. More specifically, under dissociative $\text{S}_{\text{N}}1$ -like reaction conditions, the combination of a 2-deoxy-glucopyranose donor with appropriately positioned aromatic platforms have permitted, for the first time, the experimental observation of higher glycosidation rates associated to carbohydrate/aromatic interactions. Interestingly, the obtained results show that, even in this case, aromatic/glycosyl cation contacts must be highly dynamic. Thus, the aromatic system seems to provides a nurturing, more polar local environment for developing the pyranose charge, rather than fixing a preferred geometry of the complex. Overall, the conclusions of our study indeed that aromatic-modulated catalysis in Glycochemistry must indeed be feasible in a chemical/enzymatic context.

Summary

Despite its significance, both from the fundamental and applied perspectives, this work represents, to the best of our knowledge, the *first* systematic experimental study reported on this topic.

CAPÍTULO 1

Introducción

1.- INTRODUCCIÓN.

1.1.- APILAMIENTO CARBOHIDRATO/AROMÁTICO Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR.

El reconocimiento molecular de los oligosacáridos por proteínas y ácidos nucleicos constituye un fenómeno de la máxima relevancia en Química Biológica. A modo de ejemplo, estas interacciones juegan un papel clave en procesos tales como la adhesión celular, la infección o la respuesta inmune, y se encuentran en el origen de la actividad de diversos antibióticos (Figura 1.1).^{1,2,3,4,5,6}

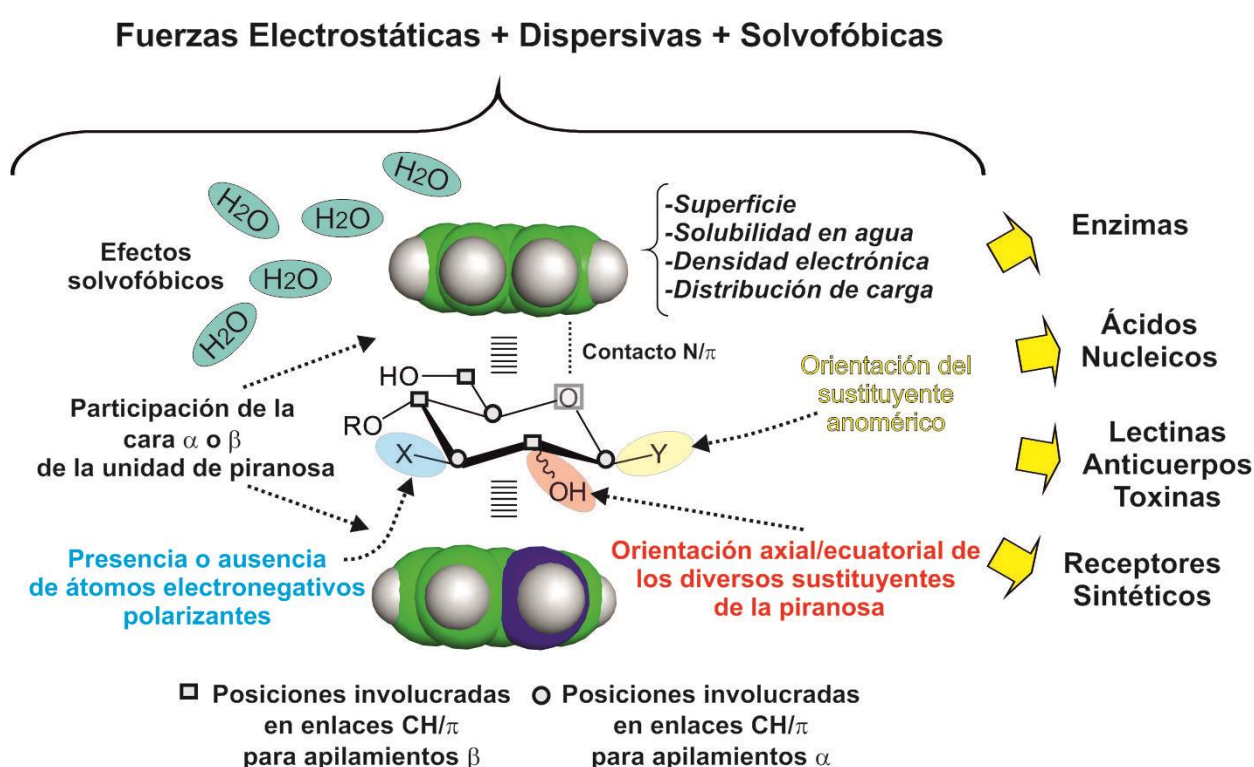


Figura 1.1.- Representación esquemática de complejos carbohidrato/aromático, las fuerzas involucradas en su formación y los factores estructurales que determinan su estabilidad.

Es, por lo tanto, comprensible el tremendo interés que el estudio de las fuerzas que estabilizan los complejos carbohidrato/receptor ha suscitado entre los químicos orgánicos durante los últimos 30 años. La actividad investigadora en este campo ha subrayado el papel determinante que, a menudo, desempeñan los residuos aromáticos del receptor en fenómenos de asociación que involucran ligandos de naturaleza oligosacáridica.⁷ Dicha conclusión puede parecer a primera vista sorprendente, considerando el carácter altamente polar de los

carbohidratos. Sin embargo, es preciso considerar que a pesar del elevado número de grupos hidroxilo presentes en su estructura, las unidades de piranosa están a su vez tapizadas por un buen número de funciones CH polarizadas, a menudo orientadas de forma preferente en una de las caras. Esta confluencia de grupos polares (funciones hidroxilos) y apolares (funciones CH) determina un carácter esencialmente anfífilo, que es explotado de forma habitual por los receptores naturales para optimizar la asociación.

En el presente apartado se repasan de forma resumida los conocimientos actuales relativos a las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático y su papel en el reconocimiento molecular de glicósidos. Con este objetivo hemos estructurado el presente capítulo en los siguientes apartados:

- 1.1.1. Interacciones de apilamiento en complejos proteína/carbohidrato: Reconocimiento de glicósidos por lectinas y anticuerpos.
- 1.1.2. Interacción carbohidrato/ácido nucleico: Papel de las bases nitrogenadas en el reconocimiento molecular de carbohidratos por ADN/ARN.
- 1.1.3. Apilamiento carbohidrato/aromático en química supramolecular: Diseño de receptores sintéticos.
- 1.1.4. Bases moleculares de la interacción carbohidrato/aromático: Estudios teóricos y experimentales.
- 1.1.5. Bases moleculares de la interacción carbohidrato/aromático: Antecedentes del grupo de investigación.
- 1.1.6. Interacciones CH/ π en complejos carbohidrato/enzima: Influencia de los anillos aromáticos sobre la reactividad de glicósidos.

1.1.1.- INTERACCIONES DE APILAMIENTO EN COMPLEJOS PROTEÍNA/CARBOHIDRATO: RECONOCIMIENTO DE GLICÓSIDOS POR LECTINAS Y ANTICUERPOS.

Desde una perspectiva fundamental, la asociación de entidades altamente polares como los glicósidos a receptores biológicos en agua, constituye un proceso complejo, cuyos diferentes aspectos han sido objeto de estudio intensivo durante más de 20 años. Dicha actividad investigadora, ha revelado que a pesar de su diversidad estructural, tanto fragmentos de ADN/ARN, como lectinas, anticuerpos o enzimas emplean estrategias comunes en su interacción con el ligando. Así, los complejos están estabilizados, en la mayoría de los casos, por un

buen número de enlaces de hidrógeno, cuya geometría ha sido cuidadosamente optimizada para favorecer una desolvatación eficiente del glicósido. Adicionalmente, las interacciones de apilamiento entre unidades de piranosa y los anillos aromáticos presentes en el receptor son frecuentes, tanto en complejos proteína/carbohidrato como proteína/ácido nucleico (Figura 1.2).^{8,9} A pesar de su relativa generalidad, las primeras evidencias del papel protagonista que las interacciones de apilamiento juegan en el reconocimiento molecular de glicósidos provienen de estudios estructurales realizados con receptores proteicos de tipo lectina y anticuerpos. A modo de ejemplo podrían citarse un buen número de lectinas, tanto de origen vegetal como animal, así como diversas toxinas vegetales.

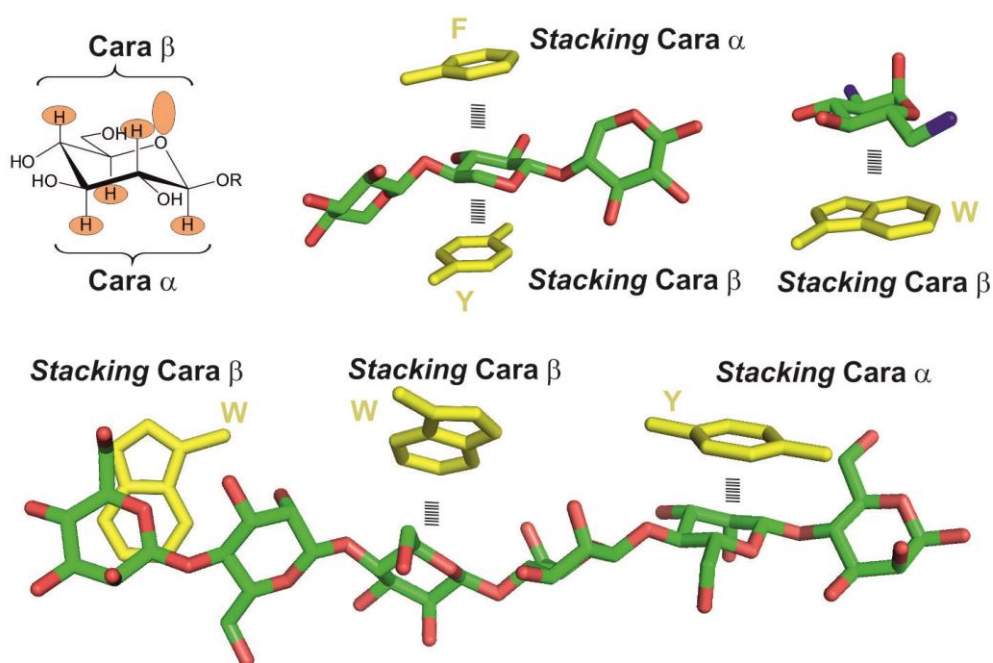


Figura 1.2.-Interacciones carbohidrato/aromático mediadas por la cara α o β de los anillos de piranosa, observadas en complejos proteína/glicósido.

La presencia de residuos aromáticos en el centro de reconocimiento de proteínas involucradas en el procesamiento de carbohidratos fue advertida por vez primera en el 1967, con la resolución mediante difracción de rayos X de diversos complejos entre lisozima y quito-oligosacáridos.¹⁰ Cabe destacar que se trata de la primera enzima cuya estructura fue resuelta con resolución atómica por métodos cristalográficos. La importancia de dichos aminoácidos, en particular del triptófano, en el proceso de asociación, fue posteriormente subrayada por estudios espectroscópicos de RMN.¹¹ Finalmente, en base al análisis de diversos

complejos proteína-carbohidrato, incluyendo los correspondientes a las proteínas quimiotácticas bacterianas que reconocen L-arabinosa y L-galactosa, Quioco y colaboradores propusieron el “apilamiento carbohidrato/aromático” como un motivo común en el reconocimiento de glicósidos por proteínas.¹² De hecho, análisis posteriores de secuencias proteicas a gran escala han demostrado la elevada frecuencia con que los residuos aromáticos, especialmente el triptófano, aparecen en los sitios de reconocimiento de carbohidratos.¹³

Estudios estructurales realizados hasta la fecha han puesto de manifiesto que los complejos proteína carbohidrato pueden presentar distintas características estructurales, existiendo un buen número de topologías y modos de interacción posibles. Así, en ocasiones, un único residuo aromático define el centro de reconocimiento, como en el caso las galectinas.¹⁴ En otras, residuos aromáticos próximos en el espacio determinan un centro de reconocimiento extendido en el que unidades de carbohidrato contiguas participan en interacciones de apilamiento. Tal es el caso de los dominios tipo heveína¹⁵ (Figura 1.3).

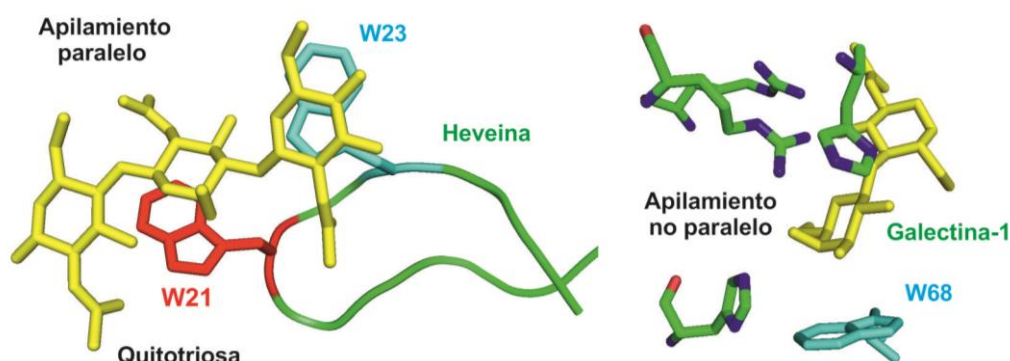


Figura 1.3.- Interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático observadas en dominios tipo heveína (izquierda) y galectinas (derecha).

Sin embargo, a pesar de esta diversidad, las interacciones de apilamiento presentan, en general, un reducido número de geometrías, muchas de las cuales pueden agruparse en dos modos generales de interacción, habitualmente designados como apilamiento paralelo y no paralelo. En el primero de ellos (Figura 1.3) el residuo aromático se dispone por encima o debajo del plano de la piranosa, estableciendo interacciones CH/ π que involucran de modo exclusivo protones axiales del glicósido. La interacción más frecuente en glucosa involucra la cara α del carbohidrato e implica la formación simultánea de tres enlaces CH/ π

con las posiciones 1, 3 y 5 de la piranosa (complejo tipo α). Alternativamente, la plataforma aromática puede posicionarse sobre la cara β del glicósido interaccionando con las posiciones 2 y 4 así como con el oxígeno endocíclico. Cabe destacar que esta geometría de interacción implica la formación de dos enlaces CH/ π y una interacción n/ π . En segundo lugar, la formación del complejo carbohidrato/aromático puede involucrar fragmentos CH ecuatoriales lo que determina un modo de apilamiento no paralelo. Dicha geometría de interacción es frecuentemente observada en complejos de manosa o galactosa e implica la formación de enlaces CH/ π simultáneos a través de tres posiciones contiguas de la piranosa (1, 2, 3 o 3, 4 y 5, respectivamente). Ejemplos de las geometrías de apilamiento descritas se representan en la Figuras 1.1, 1.2 y 1.3. Finalmente, es preciso mencionar que, si bien dichos modos de interacción son los más habituales en receptores de carbohidratos, no son, en modo alguno, los únicos posibles como se verá en el apartado 1.1.6 de la presente tesis.

Por lo que respecta a la influencia de los residuos aromáticos en el proceso de reconocimiento molecular, la mayoría de la información disponible relativa a proteínas proviene de estudios termodinámicos realizados con mutantes. Dichos trabajos han puesto de manifiesto que la contribución del apilamiento a la energía libre de interacción se sitúa, de modo habitual en el rango 1-2 kcal/mol y es fundamentalmente de tipo entálpico.^{15,16} En general, los residuos de triptófano forman los complejos más estables, seguidos de los de tirosina y, finalmente, fenilalanina. Dicha gradación refleja el papel protagonista que fuerzas dispersivas y electrostáticas tienen en la formación de los mismos (ver sección 1.1.4). Sin embargo, por encima de su contribución a la estabilidad cabe destacar el papel determinante que las interacciones de apilamiento tienen sobre la especificidad del proceso de reconocimiento. Así, la sensibilidad de los complejos CH/ π a la configuración de las diversas posiciones del azúcar hace de ellos una herramienta útil para discriminar entre diversos glicósidos y anómeros.⁷ En particular, la exclusión estérica de hidroxilos axiales por parte de la plataforma aromática hace inviable la asociación para configuraciones particulares de la piranosa. Por otra parte, a un nivel elemental, los anillos aromáticos proporcionan un modo sencillo de distinguir entre la cara α y la β de una unidad de piranosa, determinando en buena medida, la selectividad facial de la asociación. Dichas contribuciones a la afinidad y selectividad hacen de las interacciones de apilamiento herramientas indispensables para el reconocimiento de carbohidratos en agua, absolutamente ubicuas en receptores proteicos.

1.1.2.- INTERACCIONES CARBOHIDRATO/ÁCIDO NUCLEICO: PAPEL DE LAS INTERACCIONES DE APILAMIENTO EN EL RECONOCIMIENTO DE CARBOHIDRATOS POR ÁCIDOS NUCLEICOS.

Si bien muchas de las características descritas en la sección anterior son generales para complejos carbohidrato/aromático, estos presentan rasgos distintivos en el caso particular de los ácidos nucleicos.^{6a,17,18,6a, 19}

En primer lugar, suelen involucrar la cara β de la unidad de piranosa en lugar de la menos polar cara α . Como se ha mencionado con anterioridad, ello implica la participación del oxígeno endocíclico en un enlace n/π con el sistema aromático. Dicha interacción, habitualmente repulsiva para anillos ricos en electrones, estaría favorecida desde el punto de vista electrostático por la peculiar distribución de carga de las bases nitrogenadas, más π -deficientes que los aminoácidos aromáticos. De acuerdo con este razonamiento, podría hablarse de la existencia de una cierta complementariedad de cargas entre ambas entidades.

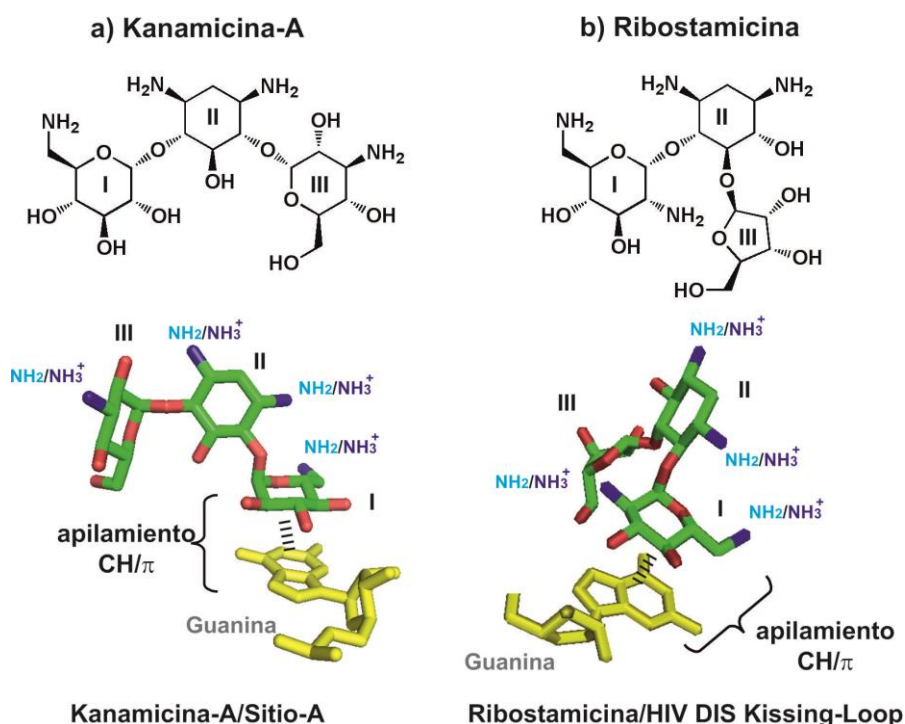


Figura 1.4.- Interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático observadas en complejos aminoglicósido/ARN. a) Centro de reconocimiento correspondiente al complejo entre Kanamicina A y el Sitio-A de la subunidad menor del ribosoma bacteriano, determinado por difracción de rayos X. b) Detalles de la interacción entre ribostamicina y el fragmento de ARN viral HIV-DIS "kissing complex".

En segundo lugar, y en conexión con el punto anterior, las interacciones de apilamiento en ácidos nucleicos involucran sistemas heterocíclicos complejos, cuyo potencial como aceptores de enlaces CH/ π no ha sido estudiado hasta la fecha. Curiosamente, de las cinco bases nitrogenadas posibles únicamente la guanina participa de modo relativamente habitual en complejos con unidades de piranosa. En principio, la preferencia por bases púricas frente a pirimidínicas parece reflejar de manera preponderante la mayor superficie de las primeras, es decir su capacidad de participar en un mayor número de enlaces CH/ π simultáneos. Por lo que respecta a la preferencia observada por la guanina, esta parece ser el resultado de una distribución de carga particular, especialmente optimizada para el establecimiento de complejos de apilamiento (Figura 1.4).

Finalmente, en ácidos nucleicos estas interacciones suelen involucrar carbohidratos policatiónicos, altamente cargados. Curiosamente, estudios recientes realizados por nuestro grupo de investigación han demostrado que la protonación de las funciones amino del ligando tiene un efecto netamente desfavorable sobre las interacciones de apilamiento. Este puede atribuirse a que la formación de enlaces CH/ π implica necesariamente una desolvatación parcial de los grupos amonio, lo cual tiene un coste energético significativo. Dependiendo de la topología del complejo, este coste puede atenuarse mediante interacciones de carácter polar de las funciones amonio con grupos del receptor. Adicionalmente, podría minimizarse mediante la *N*-metilación de posiciones concretas del carbohidrato.²⁰ En cualquier caso, la participación de residuos aromáticos en el reconocimiento de glicósidos cargados impone requerimientos estrictos respecto a la geometría final del complejo.

1.1.3.- APILAMIENTO CARBOHIDRATO/AROMÁTICO EN QUÍMICA SUPRAMOLECULAR: DISEÑO DE RECEPTORES SINTÉTICOS.

Como cabría esperar, la preponderancia de los enlaces CH/ π en complejos naturales ha inspirado el diseño y síntesis de un buen número de receptores biomiméticos capaces de reconocer carbohidratos con afinidades diversas. Cabe mencionar, sin embargo, que a pesar de los esfuerzos realizados la mayoría de los ejemplos descritos hasta la fecha están orientados al reconocimiento de carbohidratos en disolventes orgánicos. De hecho, los pocos ejemplos de receptores sintéticos capaces de asociarse con éxito a glicósidos en agua han sido proporcionados por el grupo del profesor Anthony Davis.²¹ Esto refleja de forma

clara las dificultades inherentes al reconocimiento de entidades altamente polares en medios biológicos.

Por lo que respecta a la formación de complejos en medios apolares, la estrategia más común es la incorporación de funciones polares, capaces de donar o aceptar enlaces de hidrógeno, debidamente preorganizadas por el armazón covalente del receptor. En este contexto, si bien las interacciones CH/ π pueden jugar un papel, este debe ser comparativamente menor o secundario debido, en parte, a la ausencia de contribuciones solvofóbicas significativas. Partiendo de estos supuestos, se han sintetizado y evaluado en los últimos 20 años un buen número de receptores sintéticos capaces de interaccionar con carbohidratos sencillos en disolventes orgánicos. Entre las estructuras más comúnmente empleadas con este fin se incluyen calixarenos,²² arquitecturas basadas en el ácido cólico,²³ porfirinas modificadas,²⁴ sistemas heterocíclicos polinitrogenados,²⁵ o receptores aniónicos.²⁶ En la mayoría de los casos, los receptores sintetizados cumplen su función con afinidades moderadas (en el rango milimolar, 10^3 - 10^4 M⁻¹) y baja selectividad.

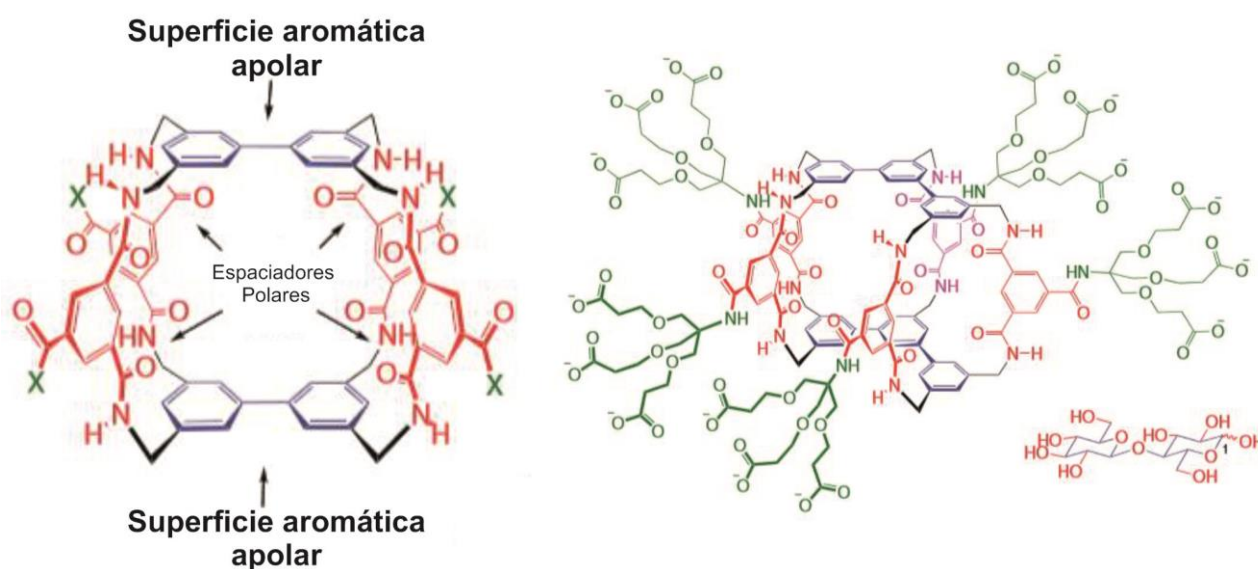


Figura 1.5.- Estructura general de los receptores sintéticos de carbohidratos diseñados en el grupo del profesor Anthony Davis.

Por lo que respecta al diseño de sistemas bio-miméticos capaces de ejercer su función en agua, diversos ejemplos, basados en una arquitectura común, han sido descritos durante los últimos 15 años. Cabe destacar que todos ellos hacen uso extensivo de las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático como

fuerza directora para la estabilización de los complejos. Dicha selección tiene sentido considerando que las funciones OH del ligando se encuentran extensamente solvatadas en agua y, por tanto, su capacidad de contribuir a la energía libre de asociación es más cuestionable. Las afinidades obtenidas mediante estos sistemas (Figura 1.5) se sitúan en el rango 10^3 - 10^5 M⁻¹ presentando en la mayoría de los casos una selectividad destacable. Curiosamente, esta capacidad de discriminación se apoya, de modo fundamental, en la sensibilidad que las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático presentan a la configuración axial/ecuatorial de las diferentes funciones hidroxilo. En definitiva, los estudios de química supramolecular apoyan el papel protagonista de los enlaces CH/ π como elementos directores del reconocimiento de glicósidos.

1.1.4.- BASES MOLECULARES DE LA INTERACCIÓN CARBOHIDRATO/AROMÁTICO: ESTUDIOS TEÓRICOS Y EXPERIMENTALES.

Las bases moleculares de la interacción carbohidrato/aromático han sido objeto de análisis detallados, tanto teóricos como experimentales durante más de 20 años. Dichos estudios se enmarcan en una investigación más amplia, cuyo objetivo es comprender las fuerzas que estabilizan los enlaces CH/ π en contextos diversos. Este tipo de interacciones han sido tradicionalmente consideradas, junto con los enlaces n/ π , enlaces de hidrógeno no convencionales. A diferencia de los enlaces de hidrógeno clásicos, las interacciones CH/ π involucran un ácido blando (constituido por funciones CH polarizadas mediante la acción de grupos electronegativos unidos al átomo de carbono) y una base blanda (la nube π de un sistema aromático), lo que determina, en buena medida, sus propiedades. Así, estudios teóricos han subrayado el protagonismo que las interacciones de Van der Waals, fundamentalmente dispersivas, tienen en la estabilización de los mismos. De hecho, las fuerzas dispersivas constituyen la contribución dominante en fase gaseosa. Adicionalmente, los complejos de apilamiento se verían estabilizados por fuerzas de naturaleza electrostática cuya contribución depende, en buena medida, del grado de polarización de las funciones CH, así como de las propiedades electrónicas del sistema aromático involucrado. Finalmente, en disolución acuosa habría que considerar una tercera contribución de naturaleza solvofóbica dada por la ocultación al disolvente de superficies relativamente apolares. En este contexto, es preciso tener en cuenta que, a pesar de su carácter globalmente polar, los carbohidratos pueden incluir, dependiendo de la

configuración de sus distintas posiciones, zonas tapizadas por funciones CH relativamente hidrofóbicas y por tanto, presentan un cierto carácter anfifílico.

Si bien existe un acuerdo general sobre la naturaleza de las fuerzas que estabilizan los contactos CH/ π y su peso relativo en fase gaseosa, el protagonismo de cada una de ellas en fases condensadas, particularmente en agua, es todavía objeto de debate. Estudios experimentales recientes²⁷ parecen indicar que los contactos de van der Waals podrían desempeñar un papel relativamente menor, debido a la competencia ejercida por el disolvente. De hecho, dicho papel parece ser prácticamente nulo para la interacción entre cadenas hidrocarbonadas sencillas. De acuerdo con esta visión, buena parte de las asociaciones atribuidas a dichas fuerzas serían, en realidad, de naturaleza electrostática y solvofóbica (Figura 1.6).

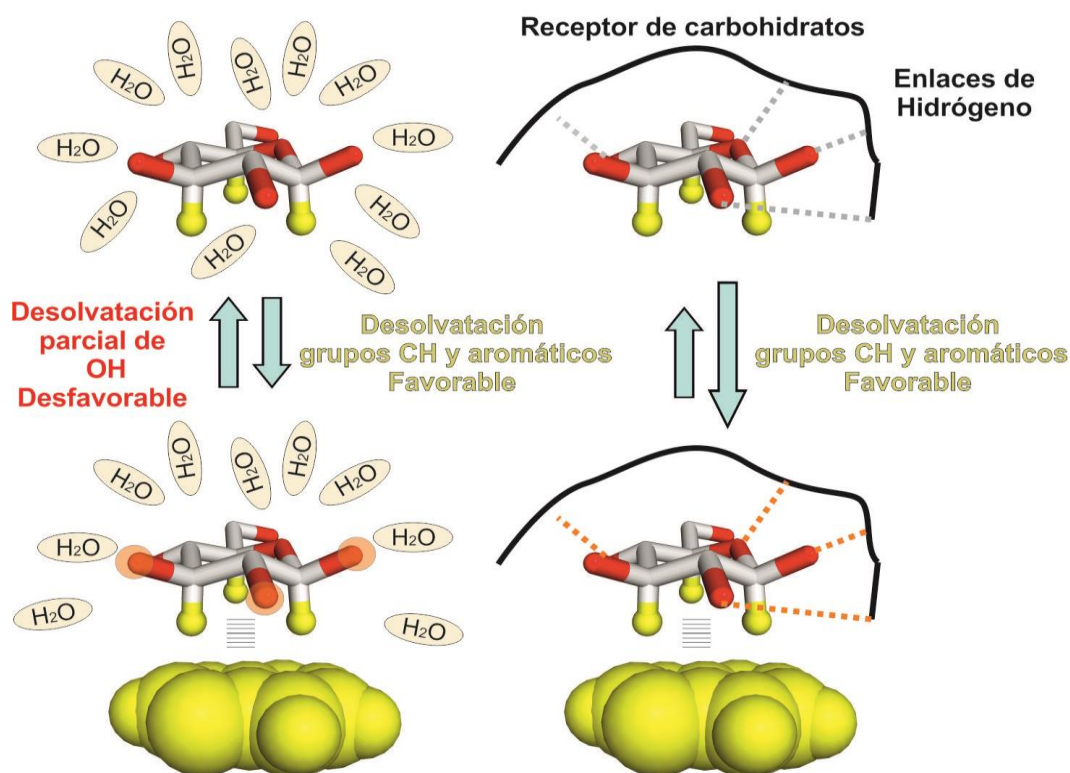


Figura 1.6.- Representación esquemática de los diferentes fenómenos de desolvatación que modulan la estabilidad de los complejos de CH/ π en agua.

Por lo que respecta a las fuerzas electrostáticas, su papel es sin duda relevante, tal como atestiguan un buen número de estudios experimentales. Buena parte de los mismos han sido realizados con receptores naturales tipo lectina. Así, se ha demostrado que la mutación de residuos aromáticos

involucrados en interacciones de apilamiento con el ligando por análogos naturales o no naturales pobres en electrones, conlleva en todos los casos una desestabilización significativa de los complejos proteína/carbohidrato. Los estudios más detallados descritos hasta la fecha para sistemas proteína/carbohidrato han sido realizados por el grupo del profesor Jiménez-Barbero.²⁸ Dichos trabajos se han centrado en dominios de tipo heveína, en cuya interacción con quito-oligosacáridos los enlaces CH/ π juegan un claro protagonismo. De acuerdo con los mismos, la sustitución de un residuo de triptófano del centro de reconocimiento por tirosina o fenilalanina tiene una penalización energética de 0.3-0.4 kcal/mol. De un modo similar, la incorporación de átomos electroattractores de F al anillo aromático desestabiliza los complejos 0.5-0.6 kcal/mol. Estudios experimentales en otros sistemas avalan estas conclusiones. Así, las relaciones lineales de energía libre medidas por Kiessling y colaboradores con indoles sustituidos apoyan la importancia que la complementariedad de cargas entre el carbohidrato y la plataforma aromática tiene en la estabilización de este tipo de complejos.²⁹

Finalmente, conviene mencionar que al igual que los enlaces de hidrógeno convencionales, las interacciones CH/ π tienen un mínimo carácter covalente. Este hecho ha sido puesto de manifiesto mediante la medida de constantes de acoplamiento escalares en sistemas proteicos.³⁰ A pesar de ello, es preciso mencionar que los complejos de apilamiento carbohidrato/aromático presentan escasa direccionalidad. Por el contrario, son interacciones altamente dinámicas y adaptables, contribuyendo a la rápida formación de los complejos.

En el siguiente apartado se exponen de forma resumida las contribuciones realizadas por nuestro grupo de investigación del Instituto de Química Orgánica a este campo de investigación.

1.1.5.- BASES MOLECULARES DE LA INTERACCIÓN CARBOHIDRATO/AROMÁTICO: ANTECEDENTES DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN.

En este contexto, nuestro grupo de investigación ha realizado diversas contribuciones de relevancia al estudio de los enlaces CH/ π , en años recientes. Uno de los primeros trabajos se centró en el análisis de interacciones CH/ π en glicósidos policatiónicos.²⁰ Entre estos ligandos se incluyen los antibióticos aminoglicósidos, agentes terapéuticos comúnmente empleados en el tratamiento

de infecciones bacterianas. La información estructural disponible relativa a complejos aminoglicósido/ARN y aminoglicósido/proteína ha puesto de manifiesto el papel clave desempeñado por los residuos aromáticos del receptor en el proceso de reconocimiento molecular. Con el objetivo de estudiar el efecto de las cargas sobre la estabilidad de los complejos de apilamiento se diseñaron, sintetizaron y analizaron diversos sistemas modelo (tales como los mostrados en la Figura 1.7). Todos ellos incluyen, como rasgo distintivo, una unidad de aminociclitol protonable involucrada en contactos CH/ π con anillos aromáticos de naftilo o bencilo. Dichos sistemas fueron sometidos a un estudio conformacional exhaustivo bajo diferentes condiciones de temperatura y pH, empleando Resonancia Magnética Nuclear (RMN) como herramienta fundamental. Los resultados obtenidos permiten concluir que los contactos entre el anillo aromático y la unidad de aminociclitol se ven significativamente desestabilizados por la protonación del aminoglicósido a valores de pH neutros y ácidos. Por su parte, un análisis teórico exhaustivo de las mismas permitió identificar el origen de este efecto: la desolvatación parcial de las funciones amonio promovida por los anillos aromáticos. En términos sencillos, la proximidad de los anillos aromáticos, esencial para el establecimiento de enlaces CH/ π , tiene un efecto desfavorable sobre la solvatación de los grupos cargados que resulta dominante desde un punto de vista energético.

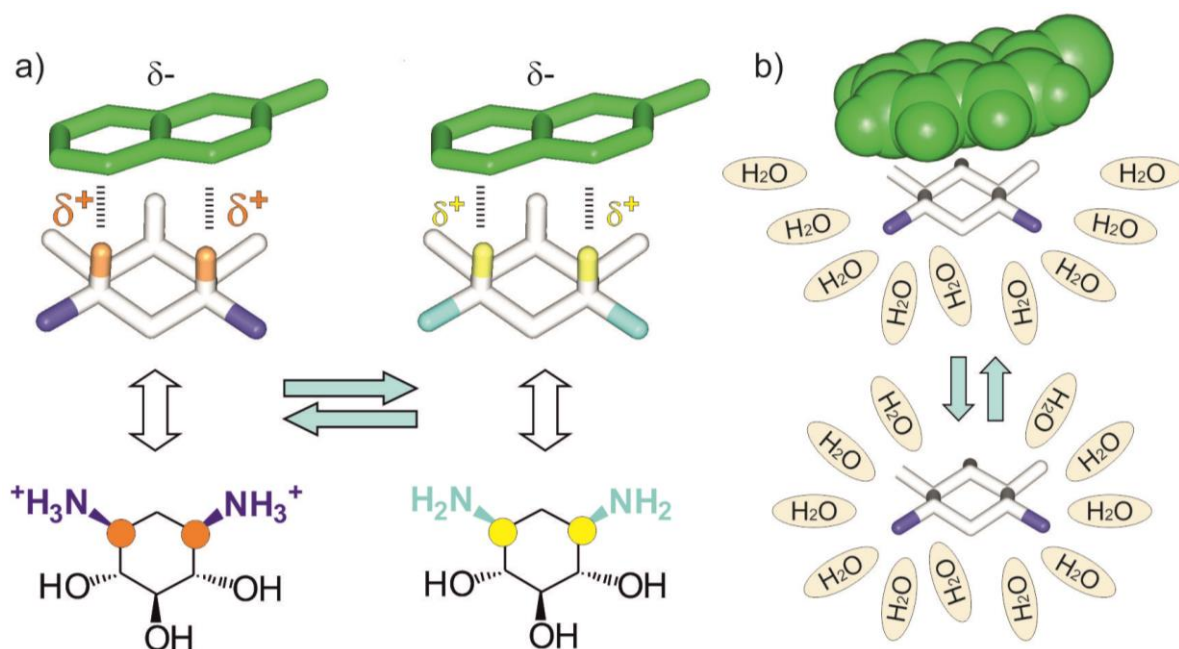


Figura 1.7.- Interacciones CH/ π en sistemas poliaminados de tipo aminoglicósido. Efectos favorable (a) y adverso (b) que la protonación de las funciones amino tiene sobre la estabilidad de los complejos.

Tal y como se ha mencionado con anterioridad, a pesar de los esfuerzos destinados a tal efecto, la naturaleza de las fuerzas que estabilizan los complejos de apilamiento carbohidrato/aromático y su contribución relativa ha sido objeto de debate en la comunidad científica. Con objeto de profundizar en el estudio de estos sistemas se desarrolló una estrategia general inspirada en conceptos de química combinatoria dinámica.^{31,32} Esta aproximación (representada esquemáticamente en la Figura 1.8) se basó en el diseño y síntesis de una librería de disacáridos, cuyo rasgo común es la presencia, en posición no reductora, de una unidad de altrosamina conformacionalmente restringida.

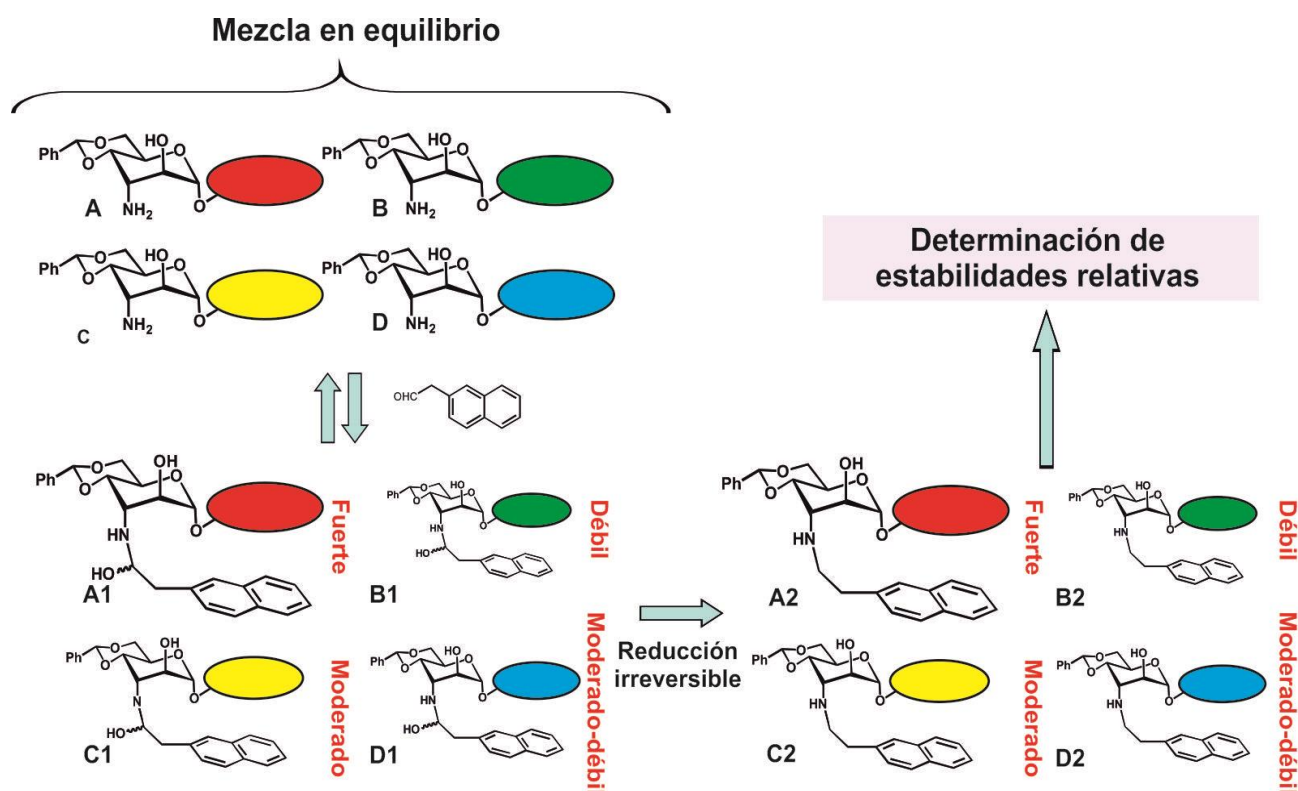


Figura 1.8.- Estrategia basada en química combinatoria dinámica diseñada para el estudio de complejos carbohidrato/aromático en agua.

El tratamiento de la librería con aldehídos aromáticos lleva a una mezcla de iminas/hemiaminales estabilizadas por el apilamiento del anillo aromático con la unidad de piranosa situada en posición reductora (representada por una elipse coloreada en la Figura 1.8). Dado que dichas especies se encuentran en equilibrio termodinámico, sus poblaciones relativas dependen exclusivamente de la magnitud de dicha interacción. En estas condiciones, la congelación del equilibrio con hidruro lleva a una mezcla estable de aminas secundarias, cuyas proporciones (fácilmente cuantificables mediante RMN u otros métodos)

proporcionan una medida directa de las estabilidades relativas de los diferentes complejos. Como prueba de principio, esta estrategia fue empleada para analizar los diferentes factores que condicionan la preferencia de un anillo de naftilo por la cara α o β de diversas unidades de piranosa (*selectividad facial*). De acuerdo con los resultados obtenidos, la aproximación combinatoria desarrollada destaca por su versatilidad y tremenda sensibilidad, revelando diferencias de estabilidad entre complejos difícilmente detectables por otros medios (0.1 kcal/mol).

En un segundo paso, dicha estrategia combinatoria dinámica se aplicó al estudio de un buen número de complejos diversos en el estudio más extenso y cuantitativo, relativo a interacciones CH/ π descrito hasta la fecha.³² Los resultados obtenidos permitieron, en primer lugar, el establecimiento de relaciones estructura-estabilidad. Adicionalmente, confirmaron la existencia de una cierta contribución solvofóbica a la estabilización de los contactos CH/ π . Como tercera conclusión, los datos obtenidos subrayaron el claro protagonismo que las fuerzas coulombicas tienen en el proceso de asociación.

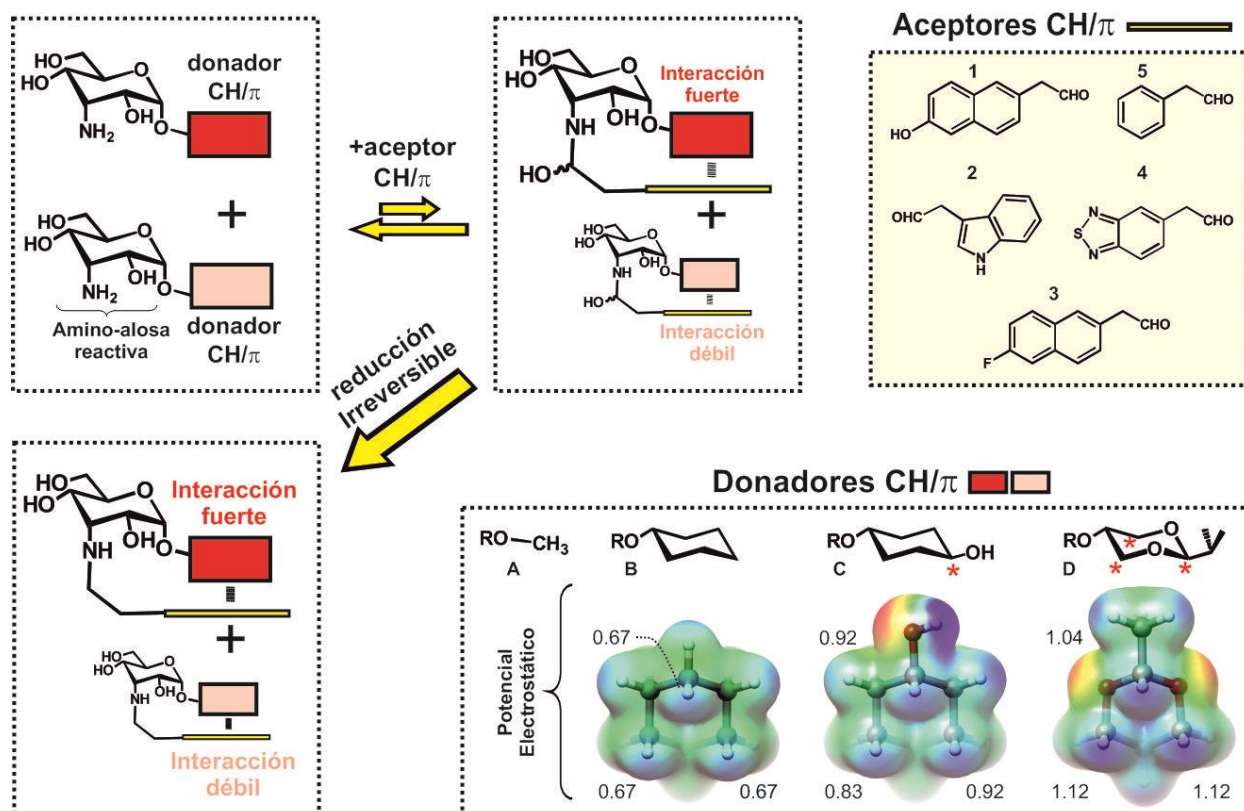


Figura 1.9.- Estrategia basada en química combinatoria dinámica diseñada para cuantificar el efecto que la polarización de las funciones CH por átomos electronegativos tiene sobre la fortaleza de los enlaces CH/ π en agua.

Finalmente, el método puesto a punto en el nuestro grupo de trabajo fue adaptado con objeto de cuantificar de forma precisa la contribución energética que la polarización de los grupos CH involucrados tiene sobre la estabilidad de los complejos en agua (Figura 1.9).³³ Para ello, fue necesario rediseñar los sistemas modelo mediante la introducción en el mismo de diversas modificaciones químicas (tales como la sustitución de la unidad de altrosa conformacionalmente restringida por una unidad de alosa). Los resultados obtenidos permitieron medir con precisión la influencia que la polarización de las funciones CH promovida por átomos de oxígeno tiene sobre la fortaleza de los enlaces CH/ π . Dicha contribución resultó ser de 0.3 kcal/mol por función CH, es decir, 0.9 kcal/mol si el complejo de apilamiento está estabilizado por tres enlaces CH/ π . Puede apreciarse la gran relevancia de este efecto considerando que la estabilidad de las interacciones carbohidrato/aromático en agua está habitualmente en el rango 1-2 kcal/mol.

1.1.6.- INTERACCIONES CH/ π EN COMPLEJOS CARBOHIDRATO/ENZIMA: INFLUENCIA DE LOS ANILLOS AROMÁTICOS SOBRE LA REACTIVIDAD DE GLICÓSIDOS.

Como punto final es preciso mencionar que las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático constituyen un motivo de reconocimiento recurrente no sólo en receptores de carbohidratos sino también en enzimas. Dicha observación plantea un interrogante relativo a su posible papel modulador de la reactividad del glicósido. En principio, la capacidad de un sistema aromático de asistir la ruptura o formación de enlaces glicosídicos está estrechamente asociada a la naturaleza de los intermedios o estados de transición participantes. Así, en aquellos casos en los que la reacción implique un desarrollo de carga positiva significativo en el glicósido, esta podría verse estabilizada mediante fuerzas electrostáticas con el cuadrupolo del sistema aromático. De hecho, las interacciones catión/ π (descritas inicialmente por Dougherty y colaboradores)³⁴ han sido estudiadas en detalle y presentan una fortaleza claramente superior a la de los enlaces CH/ π en medios de baja dieléctrica. Por otro lado, mediante la ocultación de una de las caras del glicósido, el sistema aromático podría condicionar la estereoselectividad de la reacción. Tal y como se verá en el apartado 1.2, de acuerdo con estudios mecanísticos desarrollados durante más de treinta años, las reacciones de glicosilación y solvólisis de enlaces glicosídicos

proceden, en buena parte de los casos, a través de intermedios o estados de transición tipo glicosil-oxocarbenio de carácter catiónico (Figura 1.10).

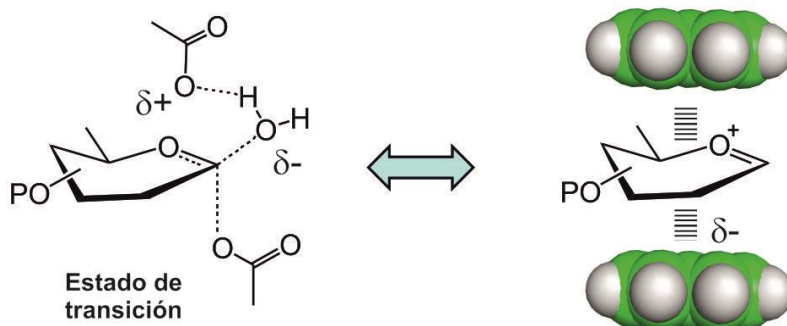


Figura 1.10.- Estado de transición postulado para una glicosidasa (izquierda) junto con el posible papel de los residuos aromáticos en la estabilización de intermedios o estados de transición catiónicos (derecha).

A pesar de la relevancia práctica del tema, el posible papel modulador de los anillos aromáticos en glicoquímica ha sido objeto de escasos estudios hasta la fecha. Existen, sin embargo, algunos ejemplos en la literatura de acuerdo con los cuales, anillos de tirosina o fenilalanina parecen asistir reacciones químicas sobre sustratos de tipo carbohidrato. Así, una comparación a gran escala de secuencias proteicas correspondientes a glicosidasas, permitió en el año 2003 identificar un residuo de fenil alanina involucrado en catálisis. Dicho sistema aromático fue descrito por los autores del trabajo como “factor de estabilización del estado de transición mecanísticamente relevante” (Figura 1.11).³⁵

Más recientemente, el grupo del profesor Ben Davis en Oxford ha descrito un nuevo mecanismo para una S_N1 -sintasa generada mediante mutagénesis dirigida a partir de una doble- S_N2 -hidrolasa.³⁶ De acuerdo a consideraciones cinéticas, estructurales y teóricas esta nueva variante hace uso de un anillo de tirosina para estabilizar el estado de transición de tipo catión glicosilo que se genera durante el ataque frontal del aceptor al centro acetálico (Figura 1.11 d).

Cabe destacar que dicho anillo de tirosina está originalmente involucrado en una interacción de apilamiento con la cara α del donador de glicosilo y por tanto desempeñaría un papel dual en catálisis y reconocimiento. Estos ejemplos sugieren que, en el contexto adecuado las interacciones carbohidrato/aromático pueden emplearse para modular la reactividad de los carbohidratos. A pesar de

ello, los requerimientos químicos y estructurales para llevar a cabo esta tarea son, en la actualidad desconocidos.

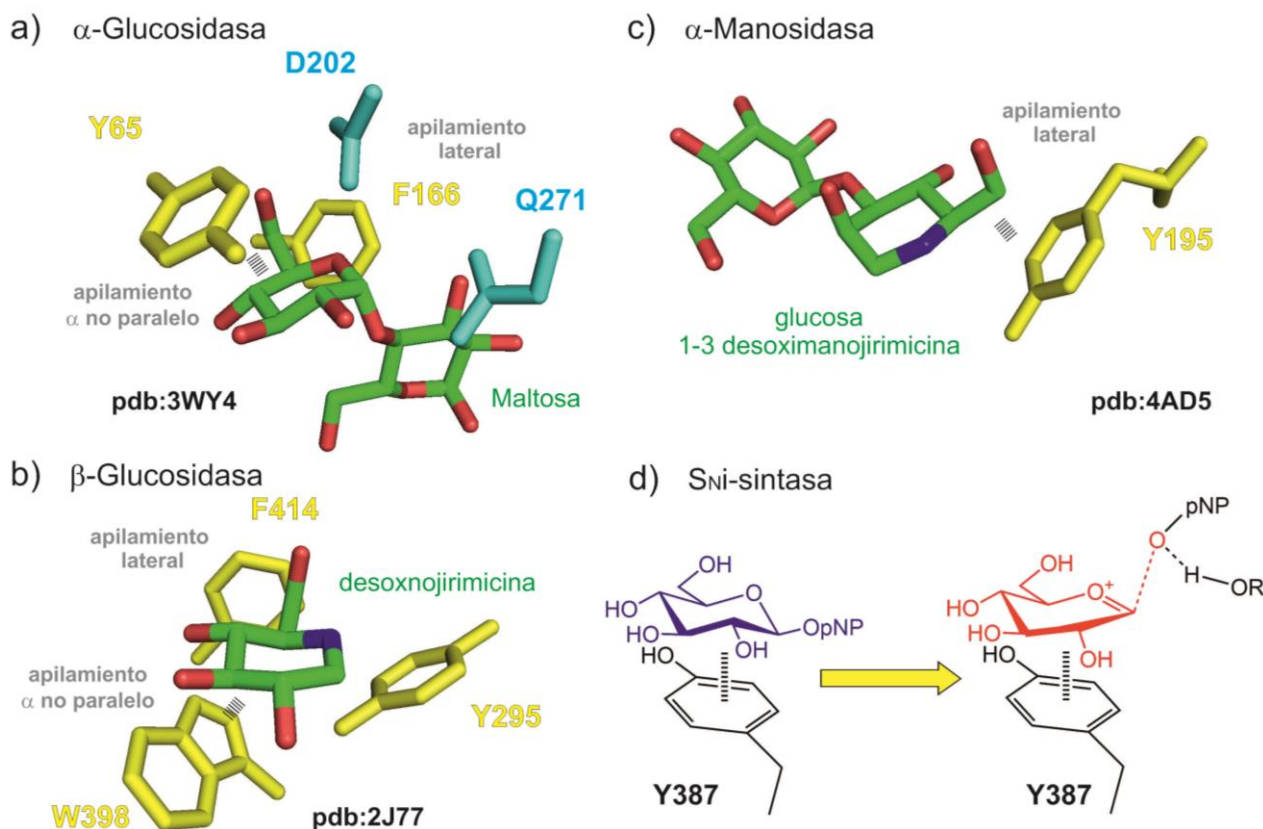


Figura 1.11.- a-c) Interacciones CH/ π observadas en centro catalítico de diversas enzimas glicosidasas (código PDB indicado) de acuerdo con estudios cristalográficos. d) Papel propuesto para un residuo de tirosina en una enzima glicosil transferasa por Ben Davis y colaboradores.³⁶

Curiosamente, una inspección detallada de la información estructural disponible revela que las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático presentes en enzimas difieren sustancialmente, desde un punto de vista geométrico, de aquellas observadas en receptores proteicos. Así, los apilamientos paralelos, sean por la cara α - o β - del anillo de piranosa (tales como el descrito por el profesor Davis y mostrado en la Figura 1.11), son relativamente extraños en los centros catalíticos de las enzimas. En términos comparativos abundan las interacciones no paralelas, laterales o desplazadas (*“parallel-shifted”*) que en ocasiones involucran solamente una o dos funciones CH del anillo de piranosa. Dichas peculiaridades podrían reflejar la necesidad de compatibilizar los contactos CH/ π con la reactividad de la función acetálica. Tal y como se especifica en el capítulo de objetivos, el propósito fundamental de la presente tesis doctoral

es analizar el impacto que las interacciones de apilamiento tienen sobre la reactividad de glicósidos en procesos que impliquen ruptura o formación de enlaces glicosídicos. Evidentemente, dicha influencia estará ligada al mecanismo concreto de los mismos y, más específicamente, al carácter catiónico de los estados de transición involucrados. En la siguiente sección del apartado introductorio se resumen diversos aspectos relacionados con la existencia de cationes glicosilo como intermedios o estados de transición y su papel en reacciones de glicosilación o solvólisis.

1.2.- GLICOSIL-OXOCARBENIOS EN QUÍMICA DE CARBOHIDRATOS: EVIDENCIAS EXPERIMENTALES Y RELEVANCIA MECANÍSTICA.

El reconocimiento del papel fundamental que los carbohidratos desempeñan en procesos biológicos clave ha corrido en paralelo al desarrollo de nuevas herramientas químicas para la formación selectiva de enlaces glicosídicos. La enorme diversidad de estructuras oligosacarídicas posibles (con diferentes puntos de conexión por unidad de azúcar, diferentes estereoquímicas, presencia o ausencia de puntos de ramificación, etc) confiere, en principio, a estas moléculas una capacidad de codificar información muy superior a la mostrada por ácidos nucleicos y proteínas.¹ Sin embargo, es preciso mencionar que dicha variabilidad estructural ha supuesto adicionalmente un reto considerable desde el punto de vista preparativo, exigiendo el desarrollo de una amplia variedad de métodos sintéticos. Cabe destacar el papel central que los intermedios o estados de transición de tipo catión glicosilo juegan en la mayoría de los mismos.

Conceptualmente, las reacciones de glicosilación son procesos sencillos que implican el acoplamiento entre un agente glicosilante electrófilo, denominado donador, y un nucleófilo conocido como aceptor de glicosilo. El mecanismo general de esta reacción se muestra esquemáticamente en la Figura 1.12.^{37, 38} En un primer paso se procede a la activación de la función anomérica mediante un promotor para dar lugar a una especie electrofílica catiónica altamente reactiva, cuya naturaleza depende del método concreto de glicosilación empleado. En un segundo paso, tiene lugar la ruptura del enlace formado entre la posición acetálica y el grupo saliente, para generar un catión glicosilo que es rápidamente capturado por el aceptor en un proceso S_N1 clásico. El ataque del mismo puede producirse por la cara α , para generar el glicósido más estable, o bien por la, potencialmente más accesible, cara β . Sin embargo, el carbocatión puede, a su

vez, asociarse con contraiones para generar pares iónicos o intermedios reactivos de naturaleza diversa, confiriendo una complejidad significativa al mecanismo. Alternativamente, el ataque de la especie nucleofílica y la salida del sustituyente anomérico puede producirse de forma concertada, dando lugar a una reacción bimolecular S_N2 convencional con inversión de configuración. Finalmente, la reacción puede proceder mediante un mecanismo intermedio, involucrando procesos más o menos concertados y que, por tanto, involucran estados de transición con diferentes grados de carácter catiónico. En otras palabras, existe un continuo de mecanismos entre los extremos S_N1 - S_N2 . La posición concreta de una glicosilación en dicho continuo vendrá determinada por una gran variedad de factores tales como la naturaleza del nucleófilo, el grupo saliente, el disolvente o la temperatura.

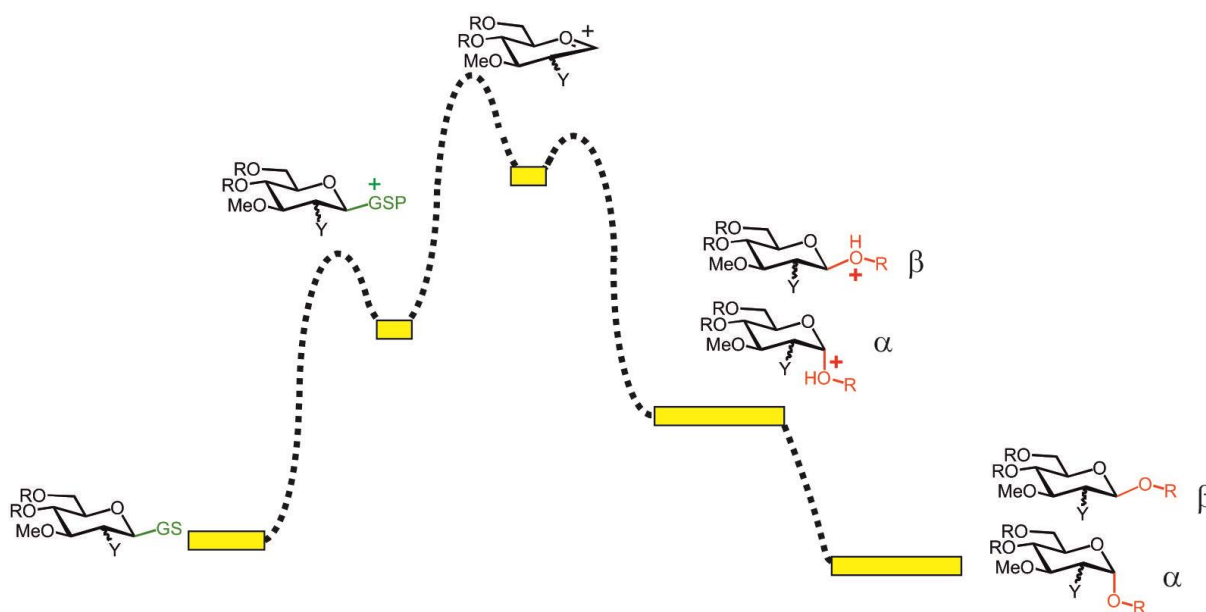


Figura 1.12.- Representación esquemática del mecanismo comúnmente aceptado para reacciones de glicosilación.

Consideraciones similares a las anteriormente expuestas pueden hacerse para las reacciones de solvólisis, con la salvedad de que en este caso el aceptor es una molécula de disolvente (sea agua o un alcohol). Finalmente, cabe mencionar que al igual que los procesos químicos, las reacciones de formación o ruptura de enlaces glicosídicos catalizadas enzimáticamente involucran estados de transición glicosil-catión, tal y como se deduce de estudios cinéticos, cristalográficos y teóricos.³⁹

A continuación, se revisan las distintas evidencias existentes en favor de especies tipo glicosil-catión y su papel (como intermedios o estados de transición) en reacciones de glicosilación o solvólisis. Para ello, hemos estructurado esta sección en los siguientes apartados:

- 1.2.1. Evidencias espectroscópicas en favor de la existencia de cationes glicosilo.
- 1.2.2. Evidencias cinéticas.
- 1.2.3. Efectos de los sustituyentes sobre la estabilidad de glicosil-oxocarbenios.
- 1.2.4. Condiciones experimentales: Influencia de disolvente y temperatura.
- 1.2.5. Influencia del donador.
- 1.2.6. Estudios teóricos.
- 1.2.7. Estados de transición de tipo glicosil-oxocarbenio en reacciones enzimáticas.

1.2.1.- EVIDENCIAS ESPECTROSCÓPICAS EN FAVOR DE LA EXISTENCIA DE CATIONES GLICOSILO.

El primer ion oxocarbenio descrito fue aislado en forma cristalina y estable por Meerwein y colaboradores en el año 1937.⁴⁰ Estas especies son iones carbenio estabilizados por resonancia que involucran un átomo de oxígeno directamente unido al átomo de carbono catiónico. Como es lógico, su estabilidad está a su vez modulada en gran medida por la presencia o ausencia de otros sustituyentes electronegativos próximos a la posición que soporta la carga positiva (ver apartado 1.2.3 de esta sección). Este hecho marca una diferencia de capital importancia entre los glicosil-oxocarbenios y aquellos alifáticos; en el primer caso la carga positiva está severamente desestabilizada por la presencia de grupos electroattractores en posición β así como en el resto de las posiciones remotas. El efecto desestabilizante de los sustituyentes puede apreciarse con claridad considerando los esfuerzos realizados por la comunidad espectroscópica de Resonancia Magnética Nuclear para detectar estas especies. Así, el primer espectro de RMN de un oxocarbenio sencillo (sin sustituyentes C-O) en medios superácidos fue obtenido en 1960.⁴¹ Más adelante se han detectado otros iones similares generados, esta vez, en diclorometano a baja temperatura. Sin embargo, todos los intentos descritos anteriores a 2016 de extrapolar este u otros métodos similares a la caracterización espectroscópica de cationes glicosilo han fracasado,

debido en la mayoría de los casos a la imposibilidad de evitar el colapso del catión con especies nucleofílicas presentes en el medio. La primera detección espectroscópica descrita de estas especies (generadas esta vez por métodos electroquímicos) data de 2011 y podría considerarse cuestionable debido a la incapacidad de los autores de proporcionar datos de ^{13}C .⁴² Posteriormente, en 2013 y 2014, Akien y Subramanian describieron los espectros de dos cationes glicosilo obtenidos en medios superácidos, si bien los detalles experimentales correspondientes no han sido publicados todavía a día de hoy.⁴³ Un avance definitivo en el campo se produjo en el año 2016 con la caracterización espectroscópica completa (^1H y ^{13}C) de per-*O*-acetil-2-desoxi-glucopiranosil y 2-bromo-2-desoxiglucopiranosil oxocarbenios generados a partir de los correspondientes acetatos de glicosilo en HF/SbF_5 descrita por los grupos de Jiménez-Barbero y Bleriot.⁴⁴ Dichas especies, estables a temperatura ambiente, presentan todos los sustituyentes acetoxi protonados y existen predominantemente en una mezcla de conformaciones ^4E y $^4\text{H}_5$ (Figura 1.13). Adicionalmente, en el caso del derivado bromado se verifica la estabilización de la carga anomérica mediante la formación de un puente con el sustituyente en posición 2, dando lugar a un ion bromonio. De acuerdo con los datos de RMN los dos cationes glicosilo presentan desplazamientos químicos de carbono para la posición anomérica de 229 y 198 ppm. Significativamente, métodos análogos fracasaron a la hora de generar el oxocarbenio a partir de per-*O*-acetil glucopiranososa debido a la formación de iones dioxalenio con el sustituyente en posición dos.

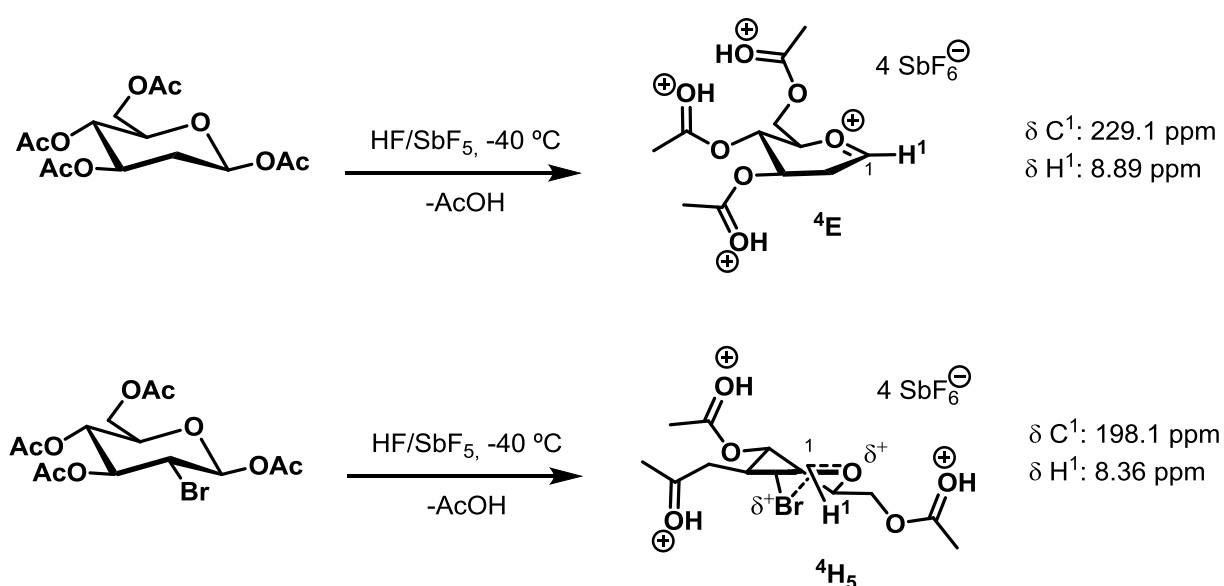


Figura 1.13.- Estructura de cationes glicosilo en medios superácidos de acuerdo con estudios espectroscópicos de RMN.⁴⁴

Cabe mencionar que, si bien la detección y caracterización de todas estas especies supone un paso de gran importancia al avalar su participación en glicosilaciones, las condiciones experimentales requeridas para ello se apartan significativamente de las presentes en un medio de reacción convencional. Por esta razón, resulta difícil extrapolar los resultados del estudio a intermedios tipo glicosil-cation generados en el curso de una glicosilación o reacción de solvólisis. En particular, las especies descritas por Blériot y colaboradores presentan todas las posiciones de la piranosa protonadas, lo cual determina, en buena medida, sus propiedades conformacionales. A su vez, la ausencia de contraiones nucleófilos en el medio impide la formación de pares iónicos cuyo efecto sobre la reactividad de glicosil-oxocarbenios es ampliamente aceptado por la comunidad científica. Finalmente, cabe mencionar que otras especies activadas de distinta naturaleza, portando sustituyentes con carga positiva sobre la posición anomérica (como los cationes glicosil-sulfonio) han sido descritas y analizadas espectroscópicamente durante los últimos 20 años.^{45, 46, 47}

A pesar de que la mayoría de los esfuerzos orientados a la detección de cationes glicosilo se han basado en la utilización de Resonancia Magnética Nuclear, la espectrometría de masas ha proporcionado métodos alternativos de exploración. Así, Denekam y Sandler han analizado la fragmentación de iones per-*O*-peracetil- α - y β - glucopiranosas empleando espectroscopia CID-ESI ("*fragmentation-induced electrospray ionization*").⁴⁸ Este estudio demostró que el isómero β , con una disposición *trans* de los sustituyentes 1 y 2 experimenta una fragmentación a oxocarbenio más rápida, observación racionalizada posteriormente en base a un fenómeno de asistencia anquimérica. Dicha fragmentación se ve, a su vez, facilitada en gran medida por orientaciones axiales de los sustituyentes.

En años recientes otras técnicas espectroscópicas han sido empleadas para la caracterización de cationes glicosilo. Una de las contribuciones más significativas en el campo fue realizada por Boltje y colaboradores. En ella, los autores son capaces de obtener espectros de infrarrojo de glicosil-oxocarbenios generados mediante sofisticadas técnicas MS/MS (*tandem mass spectrometry*). Los espectros experimentales se compararon con los teóricos obtenidos mediante cálculos DFT, lo que permitió derivar información estructural relativa a estas especies en fase gaseosa.⁴⁹

1.2.2.- EVIDENCIAS CINÉTICAS.

Los estudios cinéticos constituyen una herramienta esencial para distinguir entre mecanismos asociativos (S_N2) y disociativos (S_N1) de glicosilación. Ejemplos de ambos tipos de procesos han sido descritos en la literatura.

Uno de los primeros estudios fue descrito por Tutt y Vernon en 1960.⁵⁰ En él se analizó la reacción de cloruros 2,3,4,6-tetra-*O*-metil- α -D-glucopiranosilo y α -D-manopiranosilo con dos aceptores de diferente nucleofilia: metanol y tiofenóxido. De acuerdo con los datos obtenidos las reacciones de metanólisis siguen una cinética de primer orden, lo que constituye una evidencia a favor de un mecanismo S_N1 . Curiosamente, para el donador de glucosa el proceso tiene lugar con una inversión casi completa de la configuración anomérica. Esta observación fue atribuida por los autores al efecto de apantallamiento ejercido por el ion cloruro saliente al formar un par ionio con el catión glicosilo generado. Tal y como se esperaba, la reacción de ambos donadores con un nucleófilo más fuerte, como el tiofenóxido, sigue una cinética de segundo orden y procede con inversión de la configuración anomérica, ambas evidencias en favor de un mecanismo S_N2 .

Estudios de anomerización de cloruros de tetra-*O*-acetil-glucopiranosos con ion cloruro realizados por Lemieux y Hayami⁵¹ demostraron, igualmente, que el proceso sigue una cinética de segundo orden y, por lo tanto, el mecanismo es esencialmente bimolecular. Resultados similares han sido descritos por Paulsen y colaboradores para la reacción de diversos bromuros de glicosilo con ion cloruro como nucleófilo⁵² y por Johnson y colaboradores para reacciones de solvólisis en alcoholes.⁵³

Por el contrario, la reacción de 1-*O*-tosil-glucopiranosas con alcoholes en éter etílico, analizada por Eby y Schuerch,⁵⁴ parece seguir una cinética de primer orden, mostrando una total insensibilidad a la naturaleza del alcohol aceptor, ambas evidencias en favor de un mecanismo unimolecular S_N1 .

En años posteriores un buen número de ejemplos han sido descritos en la literatura con resultados diversos. Sin embargo, en la mayoría de los casos se trata de reacciones a temperatura ambiente cuyas condiciones experimentales difieren sustancialmente de las empleadas en muchos de los métodos de glicosilación más comunes. En este sentido cabe destacar, por su importancia, los estudios realizados por el grupo del profesor Crich empleando glicosil sulfóxidos

conformacionalmente restringidos de manosa y glucosa (Figura 1.14). De acuerdo con los mismos, la activación del donador con anhídrido triflico a baja temperatura genera los correspondientes triflatos de glicosilo con configuración α . Dichos intermediarios fueron detectados y caracterizados espectroscópicamente mediante RMN a baja temperatura.⁵⁵ La reacción de los mismos, en un segundo, paso con el alcohol aceptor generó una mezcla de productos de glicosilación α y β con estereoselectividades opuestas para manosa y glucosa.

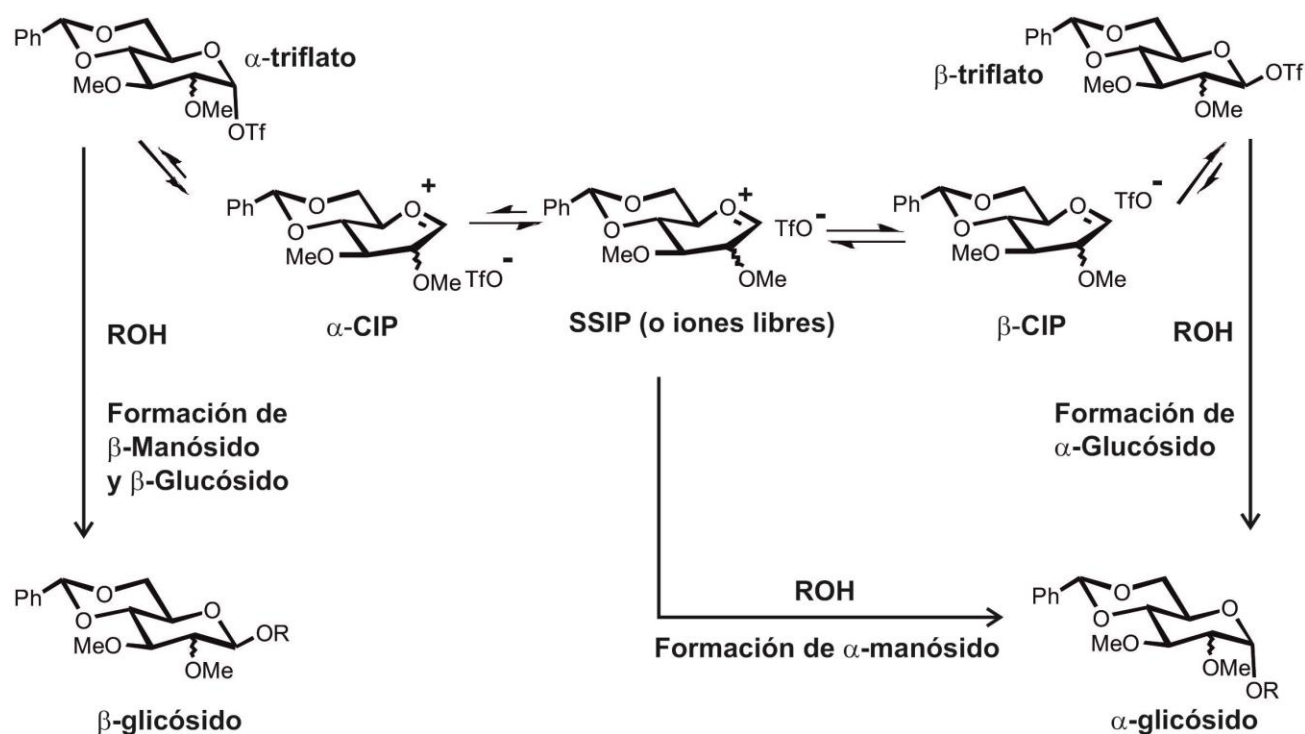


Figura 1.14.- Reacción de triflatos de glicosilo con alcoholes aceptores. Mecanismos propuestos por el prof. Crich para donadores de glucosa y manosa en base a efectos isotópicos.

Con objeto de dilucidar el mecanismo concreto que permite la formación de cada uno de los mismos, se procedió a la medida de efectos isotópicos cinéticos. Utilizando un sulfóxido de manosa parcialmente enriquecido en deuterio en la posición anomérica, se preparó el correspondiente α - triflato de glicosilo, al que se hizo reaccionar posteriormente con un aceptor de glucopiranosas relativamente poco reactivo formando preponderantemente, un enlace glicosídico β . El efecto isotópico cinético secundario medido para esta segunda reacción fue de $k^H/k^D=1.21$ a -78°C , equivalente a 1.10 a 25°C . Dicho valor

resultó consistente con un estado de transición débilmente asociativo tipo S_N2 . En un estudio posterior se midió el efecto isotópico cinético primario de ^{13}C para la asociación de 4,6-benciliden α -mano- y α -glucopiranosil triflatos con isopropanol. Los valores obtenidos resultaron los esperados para procesos bimoleculares y consistentes nuevamente con estados de transición débilmente asociativos ($k^{12\text{C}}/k^{13\text{C}}$ en el rango 1.03-1.08 a $-78\text{ }^\circ\text{C}$). De acuerdo con ellos los productos de glicosilación $-\beta$ de manosa y glucosa provendrían de una reacción S_N2 sobre los correspondientes α -triflatos de glicosilo. Por su parte, el producto de glicosilación α de glucosa provendría del ataque S_N2 del aceptor a un β -triflato de glicosilo, en equilibrio con el α - mayoritario pero indetectable debido a su reducida población (en un escenario Curtin Hammet clásico). Curiosamente, para la formación del producto de glicosilación con configuración β -manosa se midió un efecto isotópico cinético de 1.005 en el rango (1.00-1.01) esperado para un proceso S_N1 . Este estudio demuestra que los productos de glicosilación de estereoquímicas opuestas pueden generarse a partir de mecanismos alternativos.

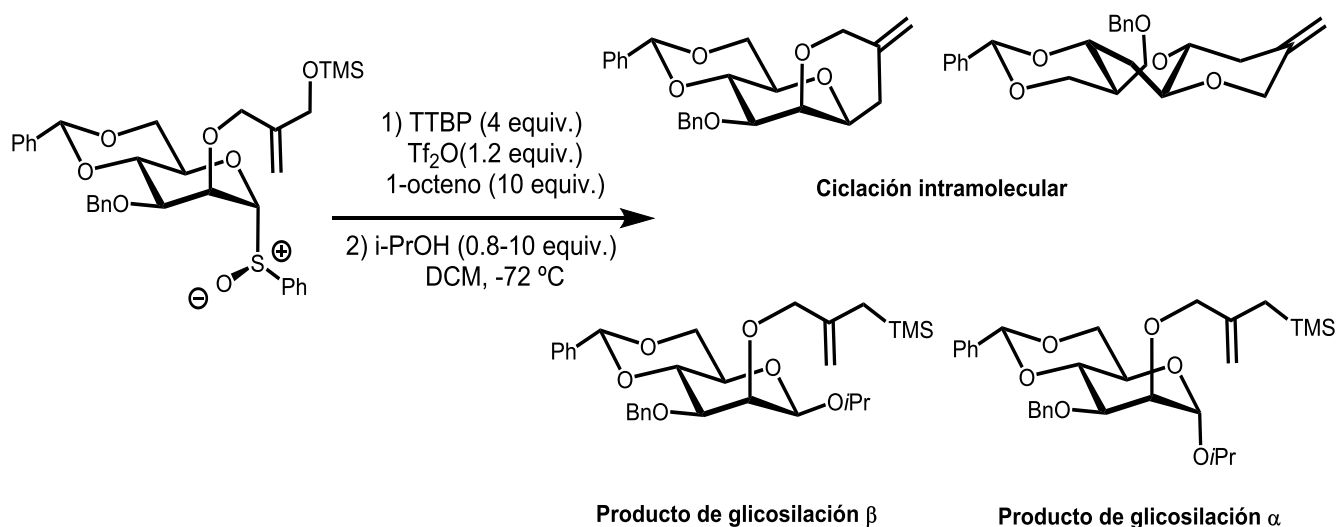


Figura 1.15.- Estrategia “catión-clock” desarrollada por Crich y colaboradores para el estudio de cinéticas en reacciones de glicosilación multicomponente a baja temperatura.⁵⁶

Los resultados descritos han sido posteriormente confirmados por medidas cinéticas realizadas por el propio grupo de Crich.⁵⁷ Dada la dificultad inherente en la realización de experimentos cinéticos a baja temperatura los autores de este trabajo emplearon una estrategia alternativa basada en el concepto de *catión-clock* (Figura 1.15). Dicha metodología consiste en utilizar una reacción de

ciclación intramolecular, y por tanto, relativamente insensible a la cantidad de alcohol aceptor presente en el medio, como reloj para estimar velocidades relativas de glicosilación. En particular, se determinó la proporción relativa de productos de glicosilación α y β con respecto a la de producto de ciclación a concentraciones crecientes de alcohol aceptor (isopropanol). Los resultados resultaron plenamente consistentes con los obtenidos previamente mediante medidas de efecto isotópico cinético. De acuerdo con ellos, el donador con configuración glucosa evoluciona mediante un mecanismo bimolecular S_N2 a partir de los triflatos de glicosilo α o β . Por el contrario para el donador de manosa, sólo el producto de glicosilación β proviene de un proceso bimolecular. La velocidad de formación del estereómero α resultó ser relativamente insensible a la concentración de alcohol aceptor, evidencia de un proceso disociativo tipo S_N1 .

Estudios similares han sido realizados para una gran variedad de procesos de glicosilación y solvólisis por el grupo del Prof. Bennet. En un trabajo clásico se describieron los estados de transición para la hidrólisis ácida de metil α - y β -glucopiranosidos en base a un extenso conjunto de efectos isotópicos cinéticos. Los datos obtenidos demuestran concluyentemente que dichas reacciones son unimoleculares y por tanto proceden a través de intermedios tipo glicosil oxocarbenio.⁵⁸ Por el contrario, la sustitución nucleófila de fluoruros de glicosilo con azida tiene lugar mediante un mecanismo S_N2 convencional.⁵⁹ Finalmente, para la solvólisis de fluoruros de α -glicosilo con un nucleófilo extremadamente débil como el hexafluoro isopropanol, los efectos isotópicos apoyan la operatividad de un mecanismo S_Ni caracterizado por el ataque frontal del aceptor a la posición acetálica y un estado de transición con un elevado desarrollo de carga positiva en la posición anomérica.⁶⁰

En definitiva, los estudios cinéticos descritos hasta la fecha describen un escenario complejo. De acuerdo con este, las reacciones de sustitución sobre la posición anomérica proceden mediante un continuo de mecanismos entre los cuales los procesos puramente S_N2 o S_N1 representan casos límite. Más comúnmente, las reacciones tienen lugar a través de estados de transición bimoleculares más o menos disociativos y con un carácter catiónico significativo en el glicósido. Como es lógico, los detalles mecanísticos de cada proceso están fuertemente condicionados por las condiciones experimentales empleadas, así como por la naturaleza química del donador y aceptor.

1.2.3.- EFECTOS DE LOS SUSTITUYENTES SOBRE LA ESTABILIDAD DE GLICOSIL OXOCARBENIOS.

La naturaleza química y orientación de los diversos sustituyentes del anillo de piranosa tiene un papel determinante tanto en estabilidad de los cationes glicosilo como en la estereoselectividad del proceso.

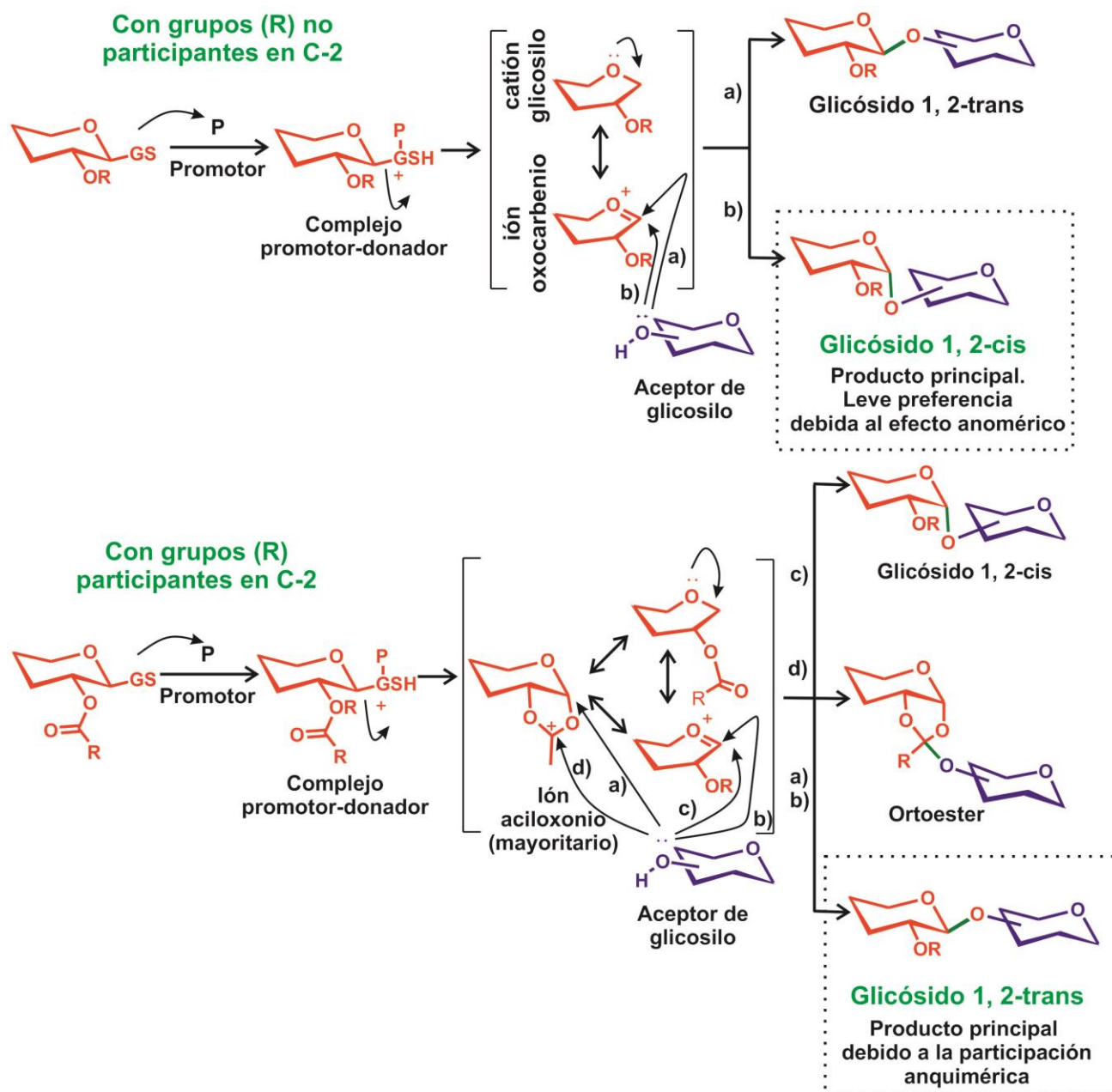


Figura 1.16.- Modulación de la estereoselectividad en reacciones de glicosilación en función de la naturaleza de los grupos en posición 2 del donador de glicosilo.

En relación con la estereoselectividad, esta puede modularse mediante la adecuada elección del grupo en posición 2 del donador de glicosilo. Así, los

grupos participantes en dicha posición, de tipo éster, favorecen la formación de intermedios de tipo aciloxonio, propiciando un mayor porcentaje del glicósido 1, 2-trans. Sin embargo, si el resto en posición 2 es de naturaleza no participante, se forma mayoritariamente un intermedio de tipo oxocarbenio, y el ataque del nucleófilo puede darse por ambas caras (α o β). A pesar de ello, aunque habitualmente se obtienen mezclas de compuestos, el producto mayoritario suele ser el favorecido por el efecto anomérico (glicósido 1,2-cis si el grupo en posición 2 está en equatorial)³⁸ (Figura 1.16).

En relación con la estabilidad de los cationes glicosilo, sustituyentes (u orientaciones de los mismos) que maximicen el efecto electroatractor total ejercido sobre la función acetálica, reducen la estabilidad de intermedios o estados de transición tipo glicosil-oxocarbenio, limitando la reactividad del glicósido. Dicha influencia ha sido objeto de un buen número de estudios experimentales durante los últimos 30 años.

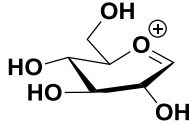
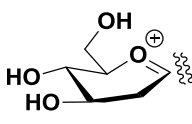
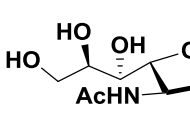
Iones oxocarbenio			
Tiempo estimado de vida(s)	1×10^{-12} (2.5×10^{-12})	$14 - 27 \times 10^{-12}$	$\geq 30 \times 10^{-12}$

Tabla1.1.- Tiempos de vida medio estimados para glicosil oxocarbenios de glucosa y 2-desoxiglucosa.

En principio, la manera más directa de abordar esta cuestión pasa por determinar el tiempo de vida medio de las especies catiónicas correspondientes. Desafortunadamente, tal y como se ha mencionado con anterioridad, la imposibilidad de detectar glicosil oxocarbenios mediante RMN indica que, excepto en medios superácidos, su existencia es demasiado breve. A pesar de ello, se han publicado diversos intentos orientados a este objetivo. El primero de ellos, publicado en el año 1989, y basado el estudio de reacciones de solvólisis y la aplicación del concepto de *clock reaction* estableció un tiempo de vida medio para el catión glucopiranosilo en agua a 25 °C de 1 picosegundo.⁶¹ Dicho valor fue posteriormente revisado al alza por Bennet y colaboradores⁶² quedando en 2.5 picosegundos. En comparación, tiempos de vida media entre 14 y 27 picosegundos han sido estimados para el catión 2-desoxi-glucopiranosilo, los

cuales ilustran el efecto desestabilizante ejercido por sustituyentes electroattractores en posición 2 del anillo de piranosa. Finalmente, cationes glicosilo derivados del ácido siálico presentan una superior estabilidad en virtud de su carácter zwitteriónico (Tabla 1.1).⁶³

Las dificultades inherentes a este tipo de estudios han llevado a la comunidad científica a adoptar otro tipo de estrategias. La mayoría de ellas, se basan en inferir la estabilidad de los intermedios catiónicos a partir de medidas de reactividad de los donadores correspondientes. Uno de los trabajos clásicos en el campo fue realizado por el grupo del profesor Withers.⁶⁴ En él se describen las velocidades relativas de hidrólisis de diversos 2,4-dinitro-fenil α -glicósidos. Los resultados obtenidos demuestran que la supresión de una sólo función OH acelera la reacción entre 4 y 22 veces dependiendo de la posición de desoxigenación concreta. De hecho, en el caso de los 2-desoxi derivados la velocidad de hidrólisis no pudo ser analizada debido a su reducida estabilidad química (Tabla 1.2).

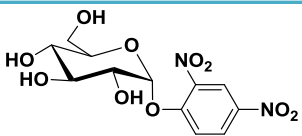
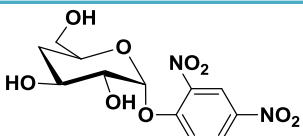
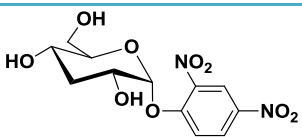
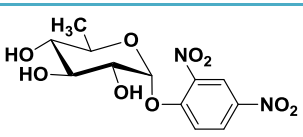
Glicósido	k_{rel}	Glicósido	k_{rel}
	1.0		22.4
	4.0		4.7

Tabla 1.2.- Velocidades de reacción relativas, medidas por Withers y colaboradores para la hidrólisis de 2,4-dinitrofenil glicósidos.

Estudios similares han demostrado el efecto desestabilizante que el átomo de oxígeno en posición 6 ejerce sobre el desarrollo de carga positiva en la piranosa. Dicho efecto resulta dependiente del valor adoptado por el ángulo diedro O5-C5-C6-O6. En particular la imposición de una orientación *tg* (*trans-gauche*) en el hidroximetilo, maximiza su efecto electroattractor sobre la función acetálica, limitando, en buena medida, su reactividad (Tabla 1.3).⁶⁵

El grupo del prof. Wong, por su parte, ha realizado un análisis extensivo de la reactividad relativa de tioglicósidos.⁶⁶ Este trabajo proporcionó información detallada acerca de la influencia moduladora ejercida por un buen número de grupos protectores en las diversas posiciones del glicósido. Desafortunadamente, al igual que en otros trabajos similares,⁶⁷ los autores son incapaces de establecer si los efectos medidos reflejan la estabilización/desestabilización del catión glicosilo intermedio por los sustituyentes o su influencia sobre el paso de activación.

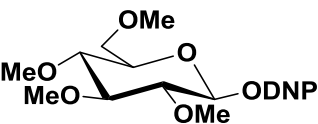
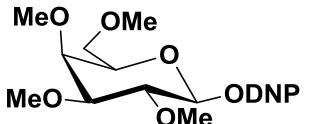
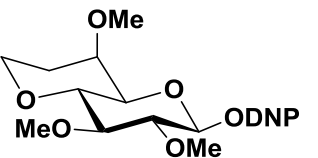
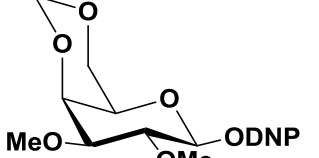
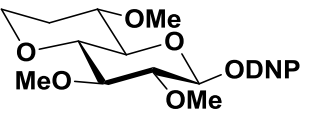
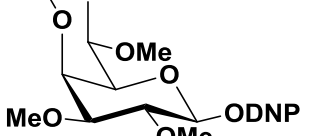
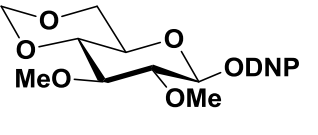
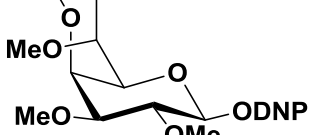
Sustrato (Glc)	Conf.	k_{rel}	Sustrato (Gal)	Conf.	k_{rel}
	–	11.1		–	5.9
	gg	3.6		gg	2.5
	gt	2.1		gt	1.4
	tg	1		tg	1

Tabla 1.3.- Efecto de la orientación de la función hidroximetilo sobre la reactividad de donadores de glicosilo.

Una manera sencilla de cuantificar el efecto ejercido por los sustituyentes sobre el desarrollo de carga positiva en ciclos de seis miembros es reemplazar el oxígeno endocíclico por un átomo de nitrógeno, y medir variaciones pKa (ΔpK_a). Esta estrategia, basada en el diseño, síntesis y evaluación de sistemas modelo que incorporan un anillo de piperidina densamente sustituido, ha sido empleada

profusamente por el grupo del prof. Bols.⁶⁸ Los resultados obtenidos permiten establecer dos tipos de influencias diferentes; aquellas transmitidas a través de enlaces y aquellas transmitidas a través del espacio, de carácter fundamentalmente electrostático. Así, sustituyentes axiales ejercen un papel estabilizante de cargas positivas superior al de los ecuatoriales, lo cual puede racionalizarse en base a su mayor proximidad espacial al centro catiónico. Dicho efecto es aditivo hasta cierto límite debido a la existencia de efectos estéricos significativos en sistemas con varios sustituyentes axiales.

1.2.4.- CONDICIONES EXPERIMENTALES: INFLUENCIA DE DISOLVENTE Y TEMPERATURA.

Como es lógico, la relevancia mecanística de los cationes glicosilo en reacciones de glicosilación está fuertemente condicionada por las condiciones experimentales de las mismas. En particular, el disolvente y la temperatura juegan papeles clave. Por lo que respecta al primero, su influencia puede racionalizarse en base a la distinta capacidad de los diferentes disolventes de estabilizar especies cargadas. En términos sencillos, cuanto mayor es la capacidad del entorno de promover la separación de cargas y estabilizar cationes glicosilo mayor es el carácter S_N1 del proceso químico. Por el contrario, medios de baja polaridad tienden a favorecer sustituciones bi-moleculares tipo S_N2 . A modo de ejemplo, la reacción de un α -triflato de manosa con un dialquifosfato procede con inversión total, para dar el glicósido β en tolueno, generando mezclas de esterómeros en otros disolventes.⁶⁹ Sin embargo, hay otras consideraciones a tener en cuenta además que la polaridad. Se ha demostrado que disolventes como el éter tienen una cierta tendencia a favorecer la formación del anómero α mediante una coordinación preferente del oxocarbenio por la cara β , mientras que los disolventes de nitrilo aumentan la cantidad de formación de β -glicósidos debido a una interacción α -axial preferente con el carbono anomérico.^{70,71,72} Así, teniendo estos factores en cuenta, y empleándolos de manera simultánea, se puede maximizar la formación del anómero deseado.

Por otro lado, consideraciones mecanísticas sencillas sugieren que las reacciones bimoleculares, al tener una mayor penalización entrópica, deben verse favorecidos a baja temperatura con respecto a procesos más disociativos. Adicionalmente, los equilibrios que permiten la formación de cationes glicosilo tienden a estar desplazados hacia las especies covalentes neutras a baja

temperatura. Ambos razonamientos apuntan en la misma dirección: el peso específico de los procesos disociativos S_N1 , y con ello la relevancia de especies tipo glicosil oxocarbenio, crece con la temperatura.

Uno de los estudios sistemáticos más extenso y completo a este respecto, basado en la realización y análisis de cientos de reacciones de glicosilación, fue publicado en el año 2018 por el grupo del Prof. Seeberger.⁷³ De acuerdo con este la temperatura juega un papel clave en la estereoselectividad del proceso. Así, a temperaturas bajas, predominan los productos de inversión (β) reflejo del protagonismo creciente que el mecanismo S_N2 cobra en la reacción. Por el contrario, incrementos de temperatura se traducen en mezclas de productos α/β . El efecto de este parámetro experimental sobre la estereoselectividad se torna irrelevante en el momento en que los procesos S_N1 son dominantes. Por lo que respecta al disolvente los resultados descritos por Seeberger son, en cierta medida, consistentes con los razonamientos anteriormente expuestos, si bien dibujan un escenario más complejo. Dichos resultados demuestran que los efectos ejercidos por el disolvente y la temperatura están, de hecho, fuertemente entrelazados.

1.2.5.- CONDICIONES EXPERIMENTALES: INFLUENCIA DEL ACCEPTOR.

A pesar de tratarse de uno de los protagonistas indiscutibles de todo proceso de glicosilación o solvólisis, la especie aceptora ha sido objeto de una atención científica relativamente reducida, en términos comparativos. Los estudios más sistemáticos y completos a este respecto han sido publicados recientemente por el grupo del Prof. Codée.⁷⁴ En ellos se analiza la reacción de diversos triflatos de 4,6-*O*-benciliden- α -glicosilo (incluyendo los de glucosa y manosa) con aceptores de nucleofilia decreciente, observándose una tendencia común a todos los aceptores con independencia de su configuración; una reducción en la nucleofilia del donador se traduce, en todos los casos en un incremento en la estereoselectividad α del proceso.

Así, por ejemplo, en el caso particular de donadores con configuración gluco-, la reacción con trifluoroetanol genera un único producto con configuración α . Cabe destacar que, dado que el triflato inicial tiene idéntica configuración, el proceso tiene lugar con retención de la misma. La explicación a este fenómeno radica en la existencia de diversas especies del donador reactivas.

A pesar de que el α -triflato de glicosilo es la única detectable, esta debe coexistir en equilibrio con otras mínimamente pobladas, pero de mayor reactividad. Aceptores suficientemente nucleófilos reaccionarán de forma mayoritaria con la especie dominante en un proceso S_N2 para generar el producto de glicosilación β (producto de inversión). Sin embargo, a medida que se atenúa la nucleofilia del aceptor, su capacidad de reaccionar con el triflato α mayoritario disminuye, entrando en juego especies de donador minoritarias más reactivas. En particular, nucleófilos débiles como el trifluoroetanol o el hexafluoroisopropanol, reaccionarían de forma preferente con cationes glicosilo (Tabla 1.4).

	$\alpha:\beta$, % rendimiento	$\alpha:\beta$, % rendimiento	$\alpha:\beta$, % rendimiento
	1:5, 70	1:10, 68	1:8, 95
	1:5, 86	1:3, 70	1:6, 70
	1:5, 90	5:1, 70	1:5, 87
	1:4, 78	>20:1, 64	1:2.5, 85
	<1:20, 44	>20:1, 42	>20:1, 40

Tabla 1.4.- Reacción de triflatos de glicosilo con donadores de nucleofilia decreciente. Influencia del donador sobre la estereoselectividad del proceso.

De acuerdo con esta hipótesis, la selectividad observada en todos los casos con este tipo de aceptores refleja la reactividad intrínseca de las especies tipo glicosil oxocarbenio. Curiosamente, C-nucleófilos débiles como el alil-trimetilsilano presentan la estereoselectividad contraria, es decir β , con aceptores de manosa. Con objeto de justificar esta observación experimental

Codée apela a la existencia de diferentes conformaciones del oxocarbenio en equilibrio, con reactividades diferenciadas. Si bien esta hipótesis explica la fenomenología observada, no puede descartarse la participación de triflato β como origen de la selectividad detectada con alcoholes débilmente nucleófilos, tal y como ha puntualizado el prof. Crich.

Las tendencias observadas pueden ser explotadas desde un punto de vista sintético para modular la estereoselectividad de una reacción de glicosilación. Así mediante una elección adecuada de grupos protectores electroattractores en la especie aceptora se puede incrementar la proporción de estereómero α en la mezcla de glicosilación final.^{75,76}

1.2.6.- ESTUDIOS TEÓRICOS.

Los cationes glicosilo han sido objeto de numerosos estudios computacionales durante los últimos 20 años. Sin embargo, estos se ven frecuentemente limitados por las simplificaciones inherentes a las metodologías de cálculo actuales. En particular, la incapacidad de impedir el colapso de la especie catiónica con el contraión ha llevado a los investigadores a incorporar restricciones u otros artefactos en los cálculos, o, en la mayoría de los casos, a omitir directamente la presencia de especies aniónicas. Si bien estos estudios son útiles para dilucidar las preferencias conformacionales de los glicosil oxocarbenios, resultan insuficientes para explicar diversos aspectos relacionados con su reactividad. Dichas preferencias han focalizado, precisamente, una parte significativa de la actividad investigadora de la comunidad teórica.

Uno de los estudios más completos, en este sentido, fue publicado por los grupos de Hunenberger y Satoh.⁷⁷ Dichos autores emplearon cálculos QM/MM para analizar la estructura de cationes de glucosa en disolventes de polaridad decreciente, haciendo uso de restricciones de distancia para prevenir el colapso de los mismos con el contraión. Sus resultados muestran que en acetonitrilo el oxocarbenio adopta de modo preferente una conformación 0S_2 en equilibrio con 3H_4 como especie minoritaria. El anión triflato, por su parte, permanece débilmente asociado a la posición anomérica con distribuciones aproximadamente igualitarias entre las caras α y β de la piranosa. Curiosamente, a medida que se reduce la polaridad del entorno, la estructura dominante pasa a ser tipo semisilla 3H_4 , con el triflato fuertemente asociado por la cara β del glicósido. En base a estos resultados los autores formulan una hipótesis, de

acuerdo con la cual, la reactividad de los glicosil oxocarbenios estaría modulada por las propiedades conformacionales del complejo oxocarbenio/contraíón como un todo.

Estudios extensivos relativos a las propiedades conformacionales de los cationes glicosilo y su relación con la estereoselectividad de las glicosilaciones han sido realizados por Filippov y Codée en furanósidos con la intención de profundizar en los efectos estereoelectrónicos que promueven los procesos 1,2-cis.⁷⁸ Para glicósidos con configuración arabino-, lixo- ribo- y xilo-, se computaron las energías de más de 200 conformaciones de glicosil oxocarbenios. Dichos valores se correlacionaron con las selectividades observadas experimentalmente para la reducción de acetatos de furanosilo con trietilsilano deuterado en presencia de trimetilsililtriflato. Las selectividades pudieron ser explicadas en base al ataque del aceptor a la conformación de mínima energía del oxocarbenio.

Estudios DFT realizados por Whitfield con cationes glicosilo indican que un grupo éter en posición 2 tiende a adoptar una conformación tal que el ángulo diedro H2-C2-O2-R es menor de 20° (orientación syn). El origen de esta preferencia conformacional está en interacciones hiperconjugativas entre el par electrónico del O2 y el LUMO del doble enlace C1-O5.⁷⁹

Además de contribuir a esclarecer las conformaciones preferentes de los cationes glicosilo, los cálculos teóricos han jugado un papel importante en la determinación y análisis de estados de transición y la predicción de efectos isotópicos cinéticos. Desafortunadamente, estos cálculos sólo pueden ser empleados en procesos asociativos. La computación de estados transición altamente disociativos en procesos S_N1 adolece de los mismos problemas anteriormente mencionados para los cationes glicosilo, siendo imposible debido al colapso de los contraíones necesarios en el cálculo. Ejemplos de caracterización teórica de estados de transición bimoleculares han sido descritos por Crich⁸⁰ y Jacobsen^{81,82} entre otros. Así, tal y como se ha mencionado en la sección 1.2.2, la discrepancia entre valores de efecto isotópico cinético teóricos y experimentales observada para la formación de 4,6-*O*-benziliden- α -manósidos a partir del correspondiente triflato ha sido atribuida al carácter S_N1 del proceso.

El problema del colapso espontáneo del par iónico generado tras la partida del grupo saliente anomérico ha sido abordado por Hosoya y colaboradores^{83,84} mediante la inclusión en cálculo de cuatro moléculas de diclorometano explícito

capaces de estabilizar las cargas generadas mediante enlaces de hidrógeno. Empleando esta estrategia, fueron capaces de calcular las energías de disociación de triflatos de glucosa y manosa permetilados.

En definitiva, los estudios teóricos de glicosilación, que durante años han concedido un protagonismo absoluto a los cationes glicosilo, debido a la imposibilidad de considerar otras especies parcialmente disociadas, han empezado a cambiar mediante la incorporación de metodologías y estrategias orientadas a evitar el colapso de los pares iónicos.

1.2.7.- ESTADOS DE TRANSICIÓN TIPO GLICOSIL OXOCARBENIO EN REACCIONES ENZIMÁTICAS.

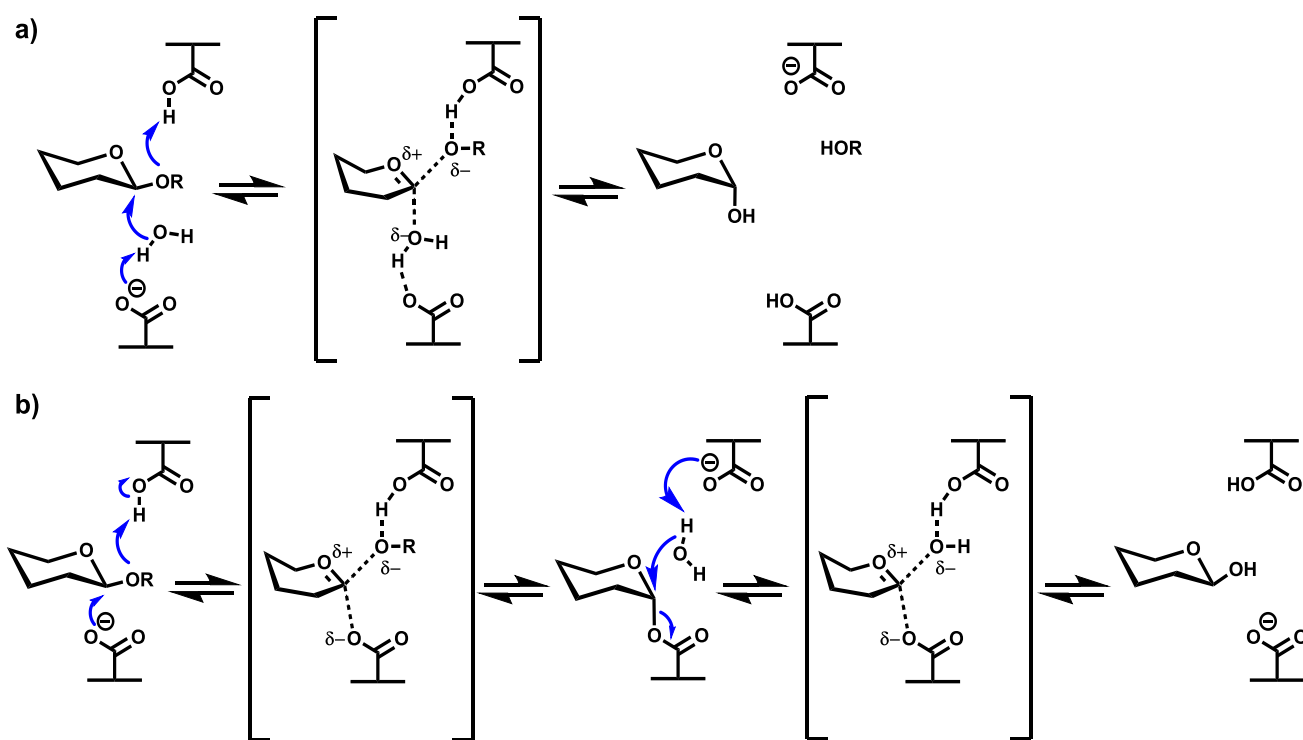


Figura 1.17.- Mecanismo general de acción de glicosidasas con inversión (a) y retención (b) de la configuración.

La información, estructural, cinética y mecanística, disponible en la literatura relativa a enzimas glicosidasas es, a día de hoy, abundante. De un modo general, pueden distinguirse dos mecanismos de acción; aquellos que proceden con retención de la configuración y aquellos que lo hacen con inversión. Ambos hacen uso de dos residuos de carboxilato catalíticos para conseguir su objetivo, situados a una distancia promedio de 10.5 Å. Los detalles de su modo de

actuación se representan esquemáticamente en la Figura 1.17. En un primer paso, el oxígeno exocíclico del glicósido es protonado por uno de los residuos ácidos del centro catalítico, lo que lo convierte en un buen grupo saliente. A partir de aquí el mecanismo difiere según el tipo de enzima. En aquellas que actúan con retención se produce la ruptura del enlace C1-O1, generándose un intermedio glicosil-oxocarbenio que es inmediatamente capturado con el segundo carboxilato catalítico, para formar un éster. En un segundo paso, el grupo éster es desplazado por una molécula de agua, en un proceso que tiene lugar con catálisis básica general y requiere la participación del primer carboxilato. De acuerdo con esto, el mecanismo tiene dos pasos y, por tanto, dos estados de transición. En aquellas enzimas que proceden con inversión, tras la activación del sustituyente anomérico el segundo residuo de carboxilato actúa como catalizador básico promoviendo el ataque de una molécula de agua a la posición acetálica.

Curiosamente, en muchas ocasiones la reacción procede con distorsiones significativas del sustrato, tal como demuestran diversos estudios de rayos X.⁸⁵ Dichas distorsiones tienen como función facilitar la ruptura del enlace glicosídico, en parte aproximando la piranosa reactiva a la conformación propia de un catión glicosilo. Información general de los estados de transición implicados ha sido obtenida por estudios cinéticos que incluyen medidas de efecto isotópico cinético.⁸⁶ De acuerdo con los mismos, el carbono anomérico adquiere un carácter sp^2 significativo, lo cual se ha interpretado comúnmente como una evidencia en favor de su proximidad a un glicosil oxocarbenio. Probablemente, las mejores evidencias en este sentido provienen de medidas de efecto isotópico cinético secundario de deuterio.⁸⁷ Dichas medidas indican que, en enzimas con retención, el segundo paso es más disociativo y por tanto el glicósido adquiere un carácter catiónico superior.

La información relativa a los estados de transición involucrados en la ruptura de enlaces glicosídicos ha servido como guía en el diseño de inhibidores. La mayoría de los esfuerzos en este sentido se han focalizado en mimetizar la conformación de semisilla, comúnmente asumida para el glicosil oxocarbenio. Adicionalmente, diferentes aproximaciones se han centrado en mimetizar el desarrollo de carga positiva que tiene lugar en el estado de transición, sea en el oxígeno endocíclico o en el exocíclico.⁸⁸ En definitiva, la información estructural, cinética y mecanística disponible en la actualidad subraya la relevancia de los cationes glicosilo, sea como intermedios o estados de transición, en procesos de formación o hidrólisis de enlaces glicosídicos catalizados enzimáticamente.

CAPÍTULO 2

Objetivos

2.- OBJETIVOS.

Tal y como se ha detallado en los capítulos introductorios, los residuos aromáticos juegan un papel clave en el reconocimiento molecular de glicósidos, contribuyendo a la estabilidad y especificidad de los complejos carbohidrato/receptor mediante interacciones de apilamiento CH/ π . Por otra parte, plataformas aromáticas de triptófano, tirosina o fenilalanina son frecuentes en los centros de reconocimiento de enzimas involucradas en la formación o ruptura de enlaces glicosídicos. Dicha observación plantea interrogantes relativos a su posible contribución a la catálisis del proceso.

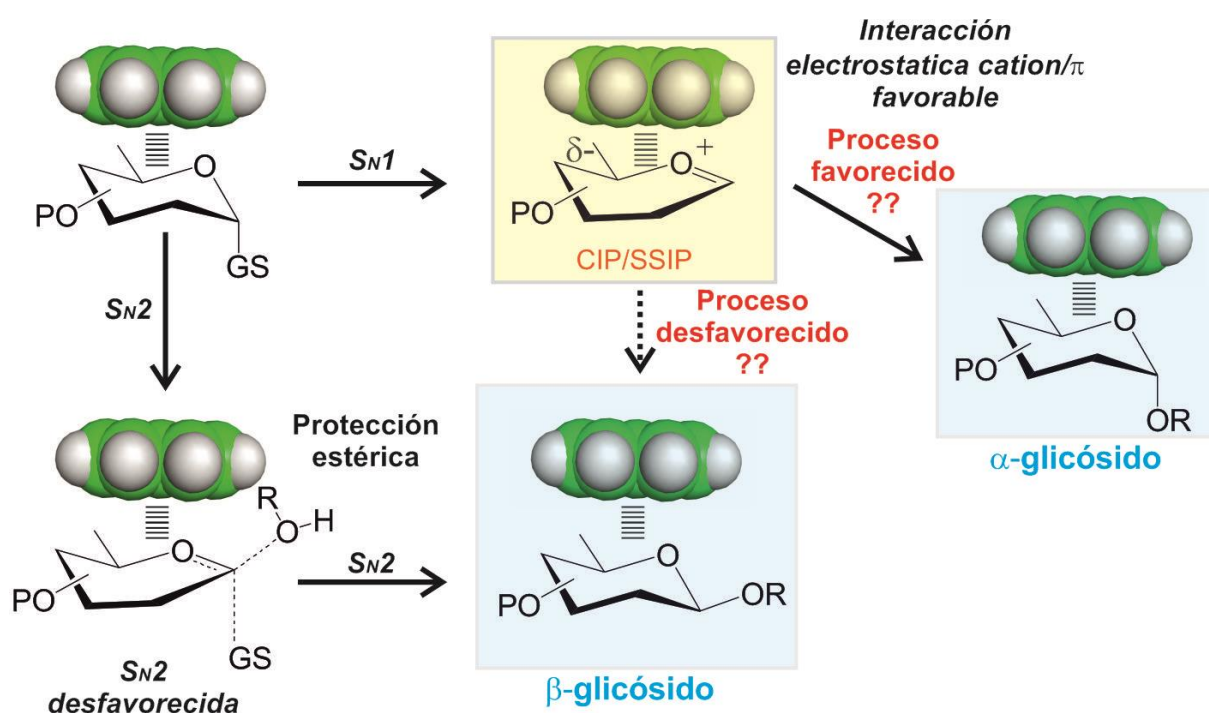


Figura 2.1.- Posibles efectos ejercidos por los residuos aromáticos sobre reacciones de sustitución anómérica en procesos asociativos o disociativos.

Desde una perspectiva química, los residuos aromáticos podrían ejercer diferentes efectos sobre las reacciones de glicosilación o solvólisis dependiendo, en buena medida, de cuál sea el mecanismo detallado de las mismas. Así, para sustituciones bimoleculares S_N2 cabría esperar un efecto inhibitorio de la reactividad, debido a la protección estérica que el apilamiento CH/ π ejerce sobre una de las caras de la piranosa. Procesos más disociativos, sin embargo, podrían verse beneficiados por interacciones electrostáticas estabilizantes entre el

cuadруполо eléctrico del sistema aromático y la carga positiva desarrollada en el entorno del centro anomérico (Figura 2.1). En el extremo S_N1 del continuo mecanístico, los enlaces CH/ π presentes en el complejo inicial se transformarían en interacciones catión/ π , cuya fortaleza, en medios de baja polaridad, es significativamente superior.³⁴ Adicionalmente, los detalles geométricos del complejo glicosil-oxocarbenio/aromático podrían determinar la estereoquímica del proceso. Ambas posibilidades adquieren peso en vista del papel central que los cationes glicosilo parecen jugar en reacciones de glicosilación y solvólisis. De acuerdo con los antecedentes expuestos en el apartado 1.2, buena parte de los procesos de formación o ruptura, química o enzimática, de enlaces glicosídicos transcurre a partir de intermedios o estados de transición tipo glicosil oxocarbenio, tal y como atestiguan un buen número de estudios mecanísticos. Por otra parte, es preciso considerar que la evolución del anillo de piranosa a catión glicosilo es habitualmente acompañada por una distorsión conformacional significativa. En principio, dicho proceso podría verse facilitado o dificultado por el sistema aromático, dependiendo de la geometría del complejo CH/ π inicial. Finalmente, cabe mencionar que otros factores, tales como la accesibilidad del disolvente al centro reactivo, así como la presencia de contraiones y su naturaleza química, pueden jugar papeles decisivos sobre el curso de la reacción, lo cual configura un escenario complejo.

En otros contextos, sin embargo, los residuos aromáticos participan con relativa frecuencia en la estabilización de intermedios de reacción/estados de transición, y lo hacen empleando todo el arsenal de interacciones a su alcance (π/π , n/π , CH/ π , catión/ π y anión/ π). A modo de ejemplo, Hunter y colaboradores⁸⁹ han postulado la participación de interacciones π/π en la estabilización de estados de transición tipo S_N2, para reacciones de alquilación de piridinas en complejos supramoleculares. De un modo similar, los enlaces CH/ π parecen jugar un papel clave en la enantioselectividad observada en la hidrogenación asimétrica tipo Noyori de aril cetonas.⁹⁰ Ejemplos de reacciones catalizadas mediante interacciones electrostáticas catión/ π pueden encontrarse en la biosíntesis de terpenos. Uno de los procesos más estudiados en este contexto es la síntesis del hopeno catalizada por la enzima escualeno-hopeno ciclasa.⁹¹ Dicha reacción implica una policiclación catiónica compleja a partir de un precursor acíclico, el escualeno, y requiere de la participación de dos residuos aromáticos de la enzima (F356 y F605) presuntamente implicados en la estabilización de las cargas positivas. Finalmente, la participación de residuos

aromáticos π -deficientes en la estabilización de estados de transición aniónicos ha sido postulada recientemente para explicar la catálisis aromática observada en la formación de ciclos tipo éter a partir de la apertura de epóxidos.⁹²

Tal y como se ha mencionado con antelación, a pesar de la relevancia del tema, los estudios que apuntan a una posible participación de unidades aromáticas en reacciones de glicosilación o solvólisis descritos en el apartado 1.1.6, son escasos. Sin embargo, dichos ejemplos demuestran que, en el contexto adecuado, unidades aromáticas pueden asistir la formación o ruptura de enlaces glicosídicos. Desafortunadamente, los requerimientos químicos para que puedan desempeñar dicha función son, a día de hoy, desconocidos.

El propósito de la presente tesis es abordar esta cuestión desde un punto de vista experimental, utilizando una aproximación química basada en el diseño, síntesis y caracterización de modelos moleculares apropiados. Nuestro grupo de investigación tiene experiencia en la preparación de armazones que permiten la formación de complejos de apilamiento carbohidrato/aromático intramoleculares. Dichos sistemas (algunos de los cuales se describen en la sección 1.1.5) se han empleado en el pasado para analizar las relaciones estructura/estabilidad que rigen los enlaces CH/ π en agua. Partiendo de los conocimientos acumulados pretendemos rediseñar los modelos iniciales o concebir otros nuevos con objeto de determinar el impacto que los complejos de apilamiento tienen sobre la reactividad del glicósido. Este objetivo general impone requerimientos esenciales sobre los armazones sintetizados. Los más relevantes se representan esquemáticamente en la Figura 2.2 y pueden resumirse en los siguientes puntos:

- a) Deben incorporar un donador de glicosilo o un glicósido lábil involucrado en una interacción de apilamiento intramolecular con un sistema aromático.
- b) La unidad reactiva debe ser activable (sea en medio ácido o mediante un promotor) en condiciones compatibles con el resto de las funcionalidades presentes en la molécula.
- c) Debe evolucionar químicamente mediante un mecanismo fundamentalmente disociativo ("*S_N1-like*"), con gran desarrollo de carga positiva en la piranosa.
- d) Ha de ser soluble en disolventes orgánicos de baja polaridad.

- e) Tal y como se ha mencionado en los capítulos introductorios (sección 1.1.4 y 1.1.5), los complejos CH/ π están parcialmente estabilizados por una contribución solvofóbica. Dicha contribución es débil o incluso inexistente en disolventes orgánicos de baja dieléctrica. Los sistemas diseñados deben ser capaces de promover un apilamiento suficientemente estable incluso en estas circunstancias adversas.
- f) En ocasiones, se contempla la incorporación de etiquetas de ^{13}C que permitan monitorizar las reacciones mediante Resonancia Magnética Nuclear de un modo sencillo y, a su vez, detectar reactivos, productos e intermedios de reacción con sensibilidad suficiente, incluso en condiciones de grave solapamiento de señales.

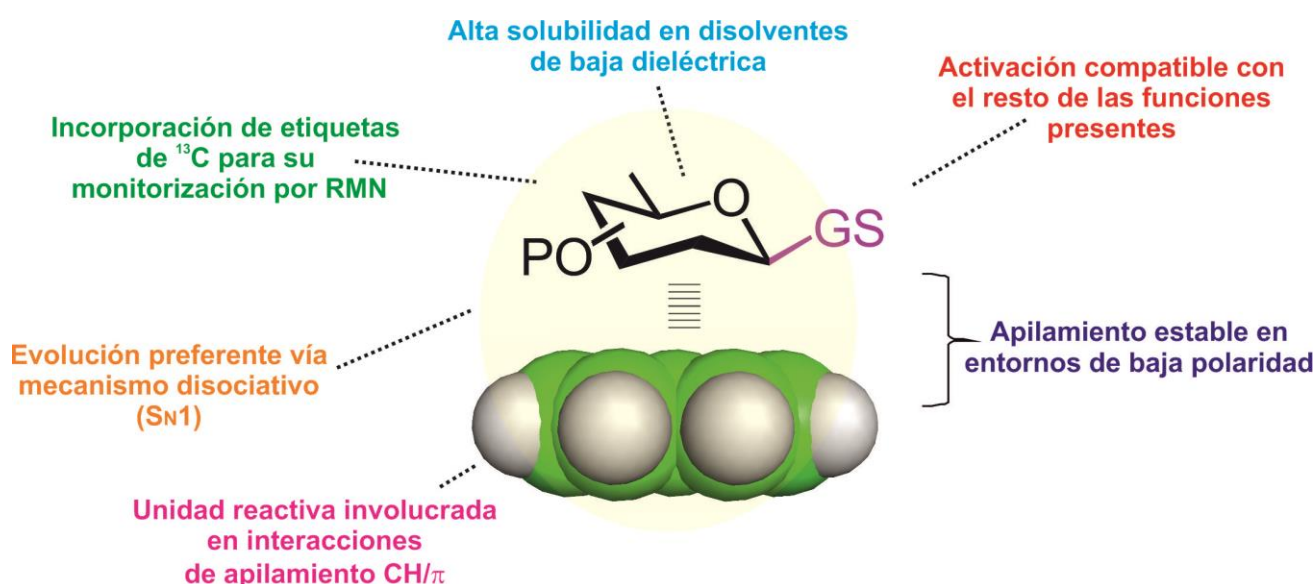


Figura 2.2.- Representación esquemática de las propiedades que los sistemas modelo deben satisfacer para el cumplimiento de los objetivos planteados.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto los objetivos generales de la presente tesis doctoral se resumen en los siguientes puntos:

- Diseño de sistemas modelo adecuados para analizar el impacto que las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático tienen sobre la reactividad de las unidades de piranosa involucradas, en reacciones de formación de enlaces glicosídicos o solvólisis.
- Síntesis de las estructuras diseñadas junto con sistemas de referencia en los cuales la interacción de apilamiento está ausente.

- c) Caracterización general de las propiedades conformacionales de los modelos, poniendo especial énfasis en la geometría y estabilidad de los complejos de apilamiento generados.
- d) Estudios de reactividad. Se analizará la influencia del sistema aromático sobre la velocidad, rendimiento y estereoselectividad de los procesos químicos seleccionados. En casos particulares se abordará la detección de intermedios de reacción clave.
- e) Se racionalizarán los resultados obtenidos, haciendo uso, si es preciso, de cálculos teóricos de dinámica molecular o mecánico-cuánticos.

CAPÍTULO 3

Resultados

3.-RESULTADOS.

3.1.- DISEÑO DE SISTEMAS MODELO: PRINCIPIOS FUNDAMENTALES.

Como primera consideración relevante a efectos de diseño, decidimos realizar nuestros estudios en un medio de baja polaridad y bajo punto de fusión como es el clorofomo. Con ello se persigue un doble objetivo. El primero es maximizar las fuerzas electrostáticas potencialmente existentes entre el cuadrupolo eléctrico del sistema aromático y la carga positiva desarrollada en el glicósido en el estado de transición. El segundo es evitar la competencia del disolvente en la estabilización de la misma. Adicionalmente, un disolvente de estas características nos permitirá llevar a cabo reacciones a bajas temperaturas (hasta -65 °C aproximadamente) lo cual es un requerimiento esencial para el estudio de determinados procesos de glicosilación. De acuerdo con esto, los sistemas modelo diseñados incluyen grupos OMe no participantes en posiciones no reactivas lo cual proporciona una amplia solubilidad en medios de baja polaridad.

Como segunda consideración, tal y como se ha mencionado en el apartado de objetivos, las interacciones CH/ π son, en general, más débiles en disolventes orgánicos debido a la ausencia de una contribución solvofóbica significativa a la estabilidad de los mismos. Con objeto de promover la formación de complejos carbohidrato/aromático suficientemente estables en estas condiciones, decidimos incrementar la superficie de las plataformas aromáticas incorporadas en nuestros sistemas modelo, empleando en buena parte de los mismos, unidades de pireno. De este modo, la menor contribución solvofóbica a la estabilidad de los apilamientos queda compensada por la formación de un mayor número de contactos CH/ π simultáneos.

Partiendo de las dos nociones generales anteriormente expuestas se diseñaron dos familias de compuestos, denominadas I y II en la presente tesis. La familia I incluye disacáridos formados por una unidad de 3-desoxi-3 amino-alosa, en posición no reductora, enlazada a residuos de galactosa o glucosa (compuestos **1**, **3**, **6** y **8**). A su vez, dichos modelos presentan un anillo de pireno anclado a la posición 3 de la alosamina, capaz de establecer interacciones de apilamiento con las unidades vecinales (Figura 3.1).

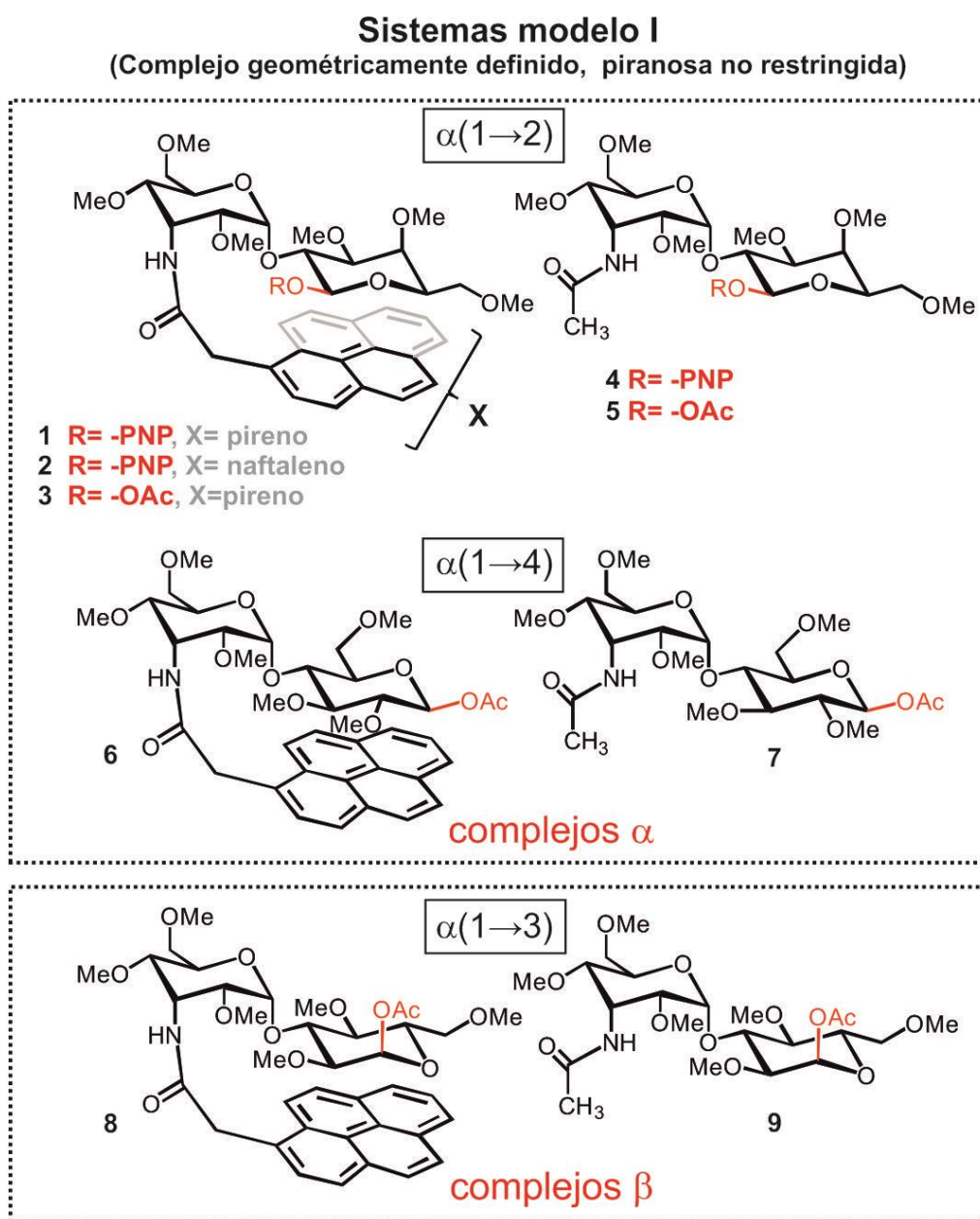


Figura 3.1.- Representación de los sistemas modelo tipo I.

Por su parte, la familia II está formada por monosacáridos en los que el grupo pireno pende de una función 4,6-*O*-benciliden. Dada la importancia directora de la posición 2 en reacciones de glicosilación se consideraron para ella diversas opciones, sintetizando modelos con configuración mano- (**10**), gluco- (**11**) y 2-desoxi-gluco (**16**). A su vez, con objeto de maximizar el efecto ejercido por los anillos aromáticos, diseñamos modelos en los que una unidad donadora de 2-desoxi-glucosa apila simultáneamente dos plataformas de pireno, formando una estructura tipo sándwich (compuesto **18**). Para ambas familias de

compuestos se consideraron distintos sistemas de referencia, provistos de unidades aromáticas de menor tamaño o carentes de las mismas (Figura 3.2).

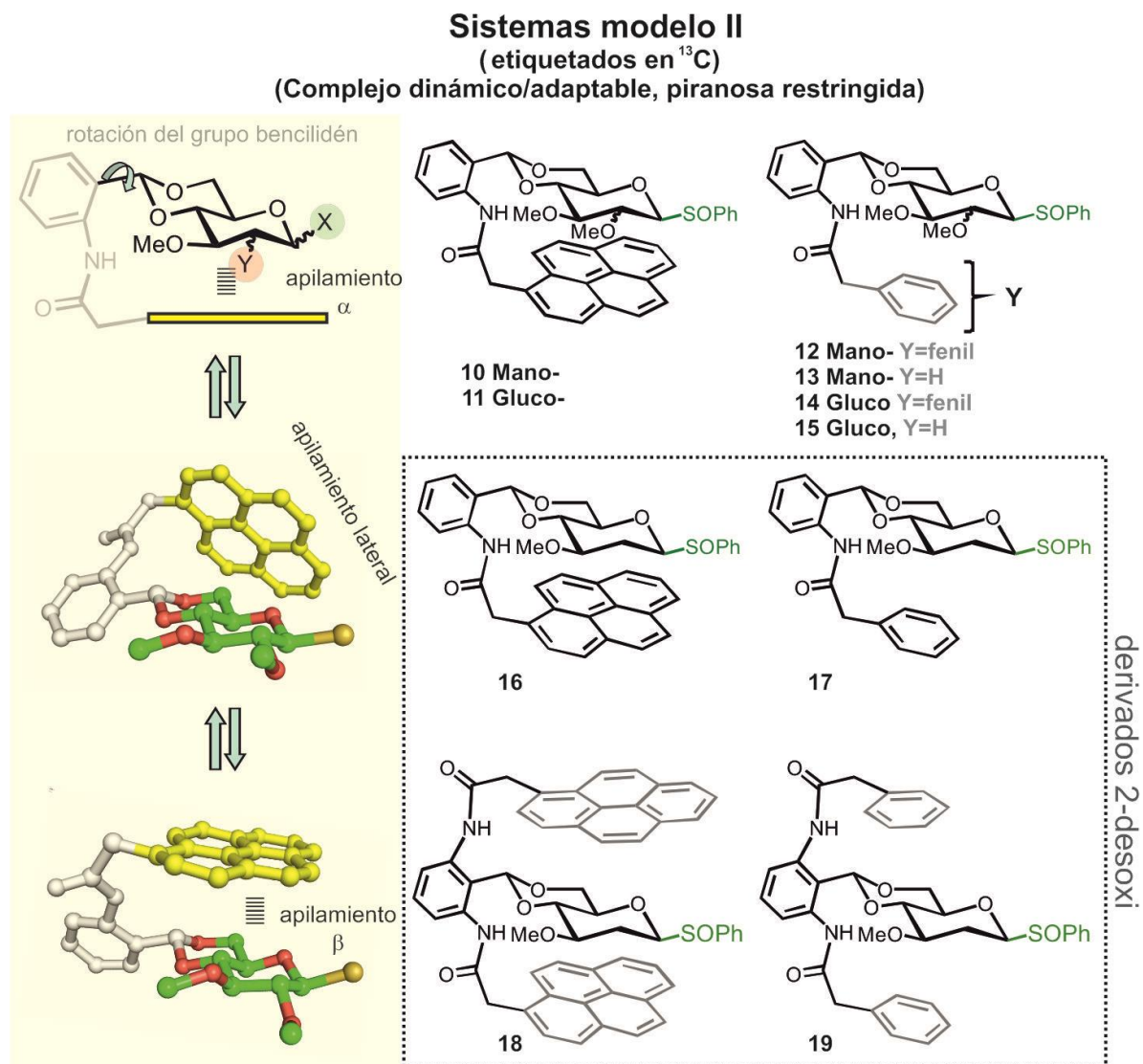


Figura 3.2.- Representación de los sistemas modelo tipo II (derecha), junto con las diferentes geometrías de apilamiento compatibles con su armazón covalente (izquierda).

Finalmente, considerando la mayor simplicidad estructural de los modelos tipo II, decidimos incorporar en parte de ellos etiquetas de ^{13}C , bien en la posición anomérica (compuestos **10** y **13**), bien en todo el armazón de piranosa (compuestos **11**, **14**, **16** y **17**). De esta forma se facilita la monitorización de reacciones químicas mediante RMN, permitiendo la detección de reactivos, productos e intermedios con elevada sensibilidad, incluso en espectros altamente congestionados.

Dos diferencias entre los sistemas tipo I y II merecen especial atención por su potencial relevancia a efectos de reactividad. La primera de ellas tiene que ver con el carácter estático o dinámico de las interacciones carbohidrato/aromático generadas. Más concretamente, los sistemas tipo I son capaces de generar interacciones de apilamiento estables perfectamente definidas desde un punto de vista geométrico, y que involucran de modo exclusivo la cara α (modelos **1**, **2**, **3** y **6**) o β (modelo **8**) de la piranosa reactiva dependiendo del sistema. Por el contrario, en los sistemas tipo II, el anillo de pireno está anclado a un grupo bencilidén cuya rotación se traduce en contactos carbohidrato/aromático dinámicos. Se trata de sistemas altamente adaptables capaces de generar interacciones CH/ π paralelas o no paralelas que involucran las caras α y β así como contactos laterales con geometrías diversas. La segunda diferencia tiene que ver con la rigidez conformacional de la piranosa reactiva. Así, en modelos tipo I esta puede distorsionarse a medida que el sistema evoluciona hacia el estado de transición catiónico, adquiriendo en principio cualquier conformación. Por el contrario, en modelos tipo II, la unidad donadora está conformacionalmente restringida mediante una función 4,6-*O*-bencilidén. Esto implica que, sólo una parte del espacio conformacional propio de una piranosa es accesible al glicosil-oxocarbenio. En resumen, los modelos tipo I combinan apilamiento definido y piranosa flexible mientras que en el caso de los modelos tipo II el apilamiento es dinámico y la piranosa más rígida. Esto nos permitirá estudiar la influencia del residuo aromático sobre la reactividad del glicósido en escenarios opuestos (en lo referente a los dos parámetros estructurales).

Por lo que respecta a los grupos salientes instalados en posición anomérica, estos fueron seleccionados en base a criterios químicos. Así, dada la mayor complejidad estructural de los modelos tipo I y la no disponibilidad de marcaje isotópico decidimos llevar a cabo reacciones sencillas de metanólisis catalizada por ácidos. Dichas reacciones pueden llevarse a cabo a temperatura ambiente y de acuerdo con un buen número de estudios^{58, 60, 64, 78, 93} proceden a través de estados de transición con un desarrollo significativo de carga. De acuerdo con esto, los compuestos integrados en la familia I, presentan sustituyentes anoméricos *p*-nitro-fenilo- o acetato (ambos sensibles a medios ácidos). En lo referente a los sistemas de tipo II, su mayor sencillez, así como la disponibilidad de marcaje isotópico nos permitió abordar reacciones más complejas, en condiciones de glicosilación químicamente relevantes y condiciones de baja

temperatura. Por esta razón se instalaron fenil-sulfóxidos en posición anomérica. (Figura 3.3).

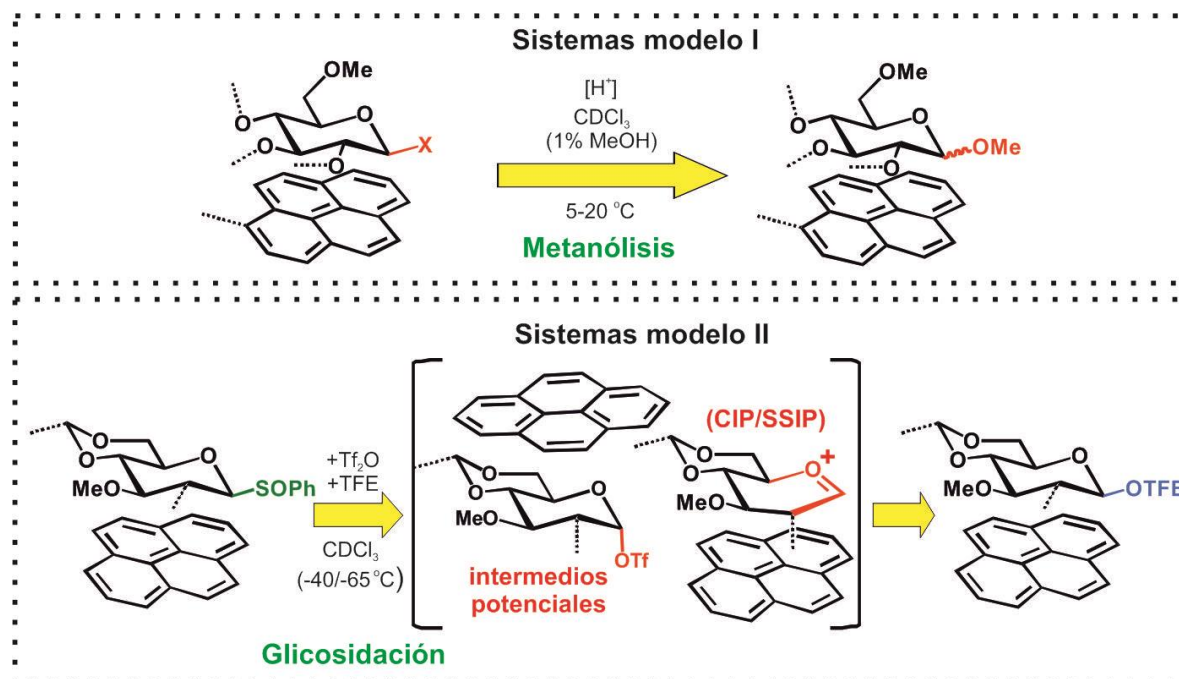


Figura 3.3.- Reacciones seleccionadas para el ensayo de los modelos tipo I y II.

Cabe mencionar que las glicosilaciones con estos sistemas han sido objeto de estudios detallados por el grupo del profesor Crich.^{43, 56-57, 94} De acuerdo con ellos, la reacción puede proceder a través de un continuo de mecanismos en el cual los procesos puramente asociativos S_N2 o disociativos S_N1 representan casos extremos. De hecho, intermediarios altamente reactivos tipo glicosil-triflato y glicosiloxocarbenio (bien disociado o formando pares iónicos) pueden jugar un papel clave dependiendo de las condiciones de reacción y los actores involucrados (Figura 3.3). Es posible, sin embargo, promover procesos S_N1 mediante una selección adecuada del aceptor, de acuerdo con estudios recientes de Codée y col.^{74,95} Así, aceptores débilmente nucleófilos tienden a participar en sustituciones S_N1 . Dado nuestro interés en analizar el efecto del apilamiento carbohidrato/aromático en el contexto de un proceso altamente disociativo, seleccionamos trifluoroetanol (TFE) como aceptor para nuestros estudios.

Finalmente, cabe mencionar que los aspectos básicos del diseño previamente descrito están avalados por cálculos teóricos (Figura 3.4) de dinámica molecular, así como mecánico cuánticos, realizados en colaboración con los doctores Francisco Corzana (de la Universidad de la Rioja) y Gonzalo Jiménez-

Osés (del CIC-bioGune de Bilbao). Así, trayectorias dinámicas obtenidas para el derivado **1** en presencia de cloroformo explícito predicen la formación de un complejo estable que involucra la plataforma de pireno y la cara α de la piranosa reactiva con una población superior al 95 %. Este armazón covalente permite, a su vez, una interacción óptima entre el sistema aromático y el catión glicosilo, tal y como se deduce del complejo optimizado a nivel mecanico cuantico. Para el derivado **10**, el apilamiento está, igualmente mediado por la cara α de la unidad de reactiva de manosa, si bien, en este caso, la población de complejo es sensiblemente inferior (< 80 %). Por el contrario, para el derivado **11** se predice la co-existencia de dos complejos en equilibrio mediados por las caras α y β de la unidad de glucosa.

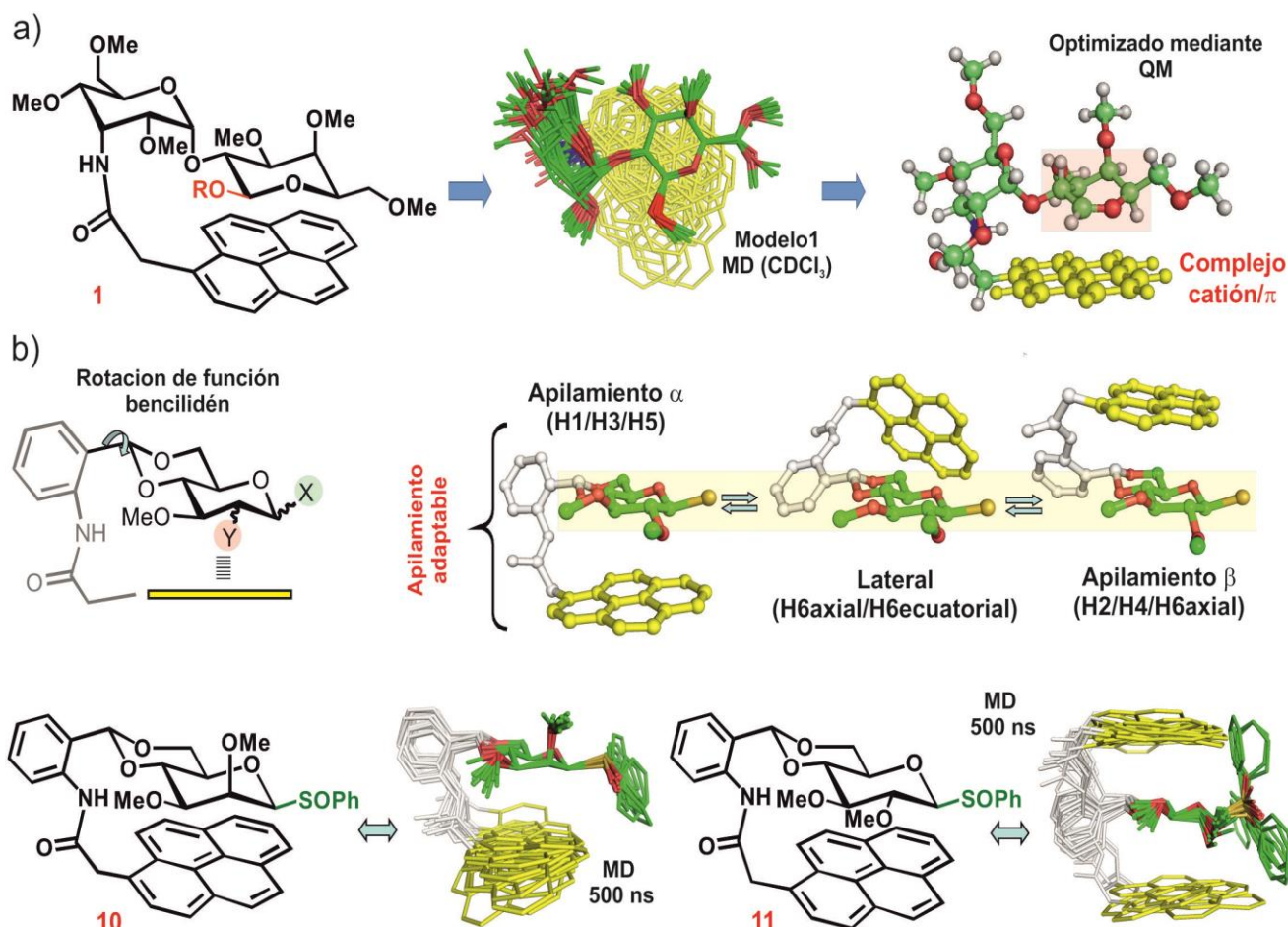


Figura 3.4.-a) Cálculos de dinámica molecular realizados con el modelo **1** en presencia de cloroformo explícito (500 ns). La estructura del complejo pireno/oxocarbenio optimizada a nivel mecánico-cuántico se muestra a la derecha. **b)** Arriba.- Representación de los diversos modos de apilamiento accesibles a los modelos tipo II. Debajo.- Trayectorias dinámicas obtenidas para los modelos **10** y **11** en presencia de cloroformo explícito (500 ns).

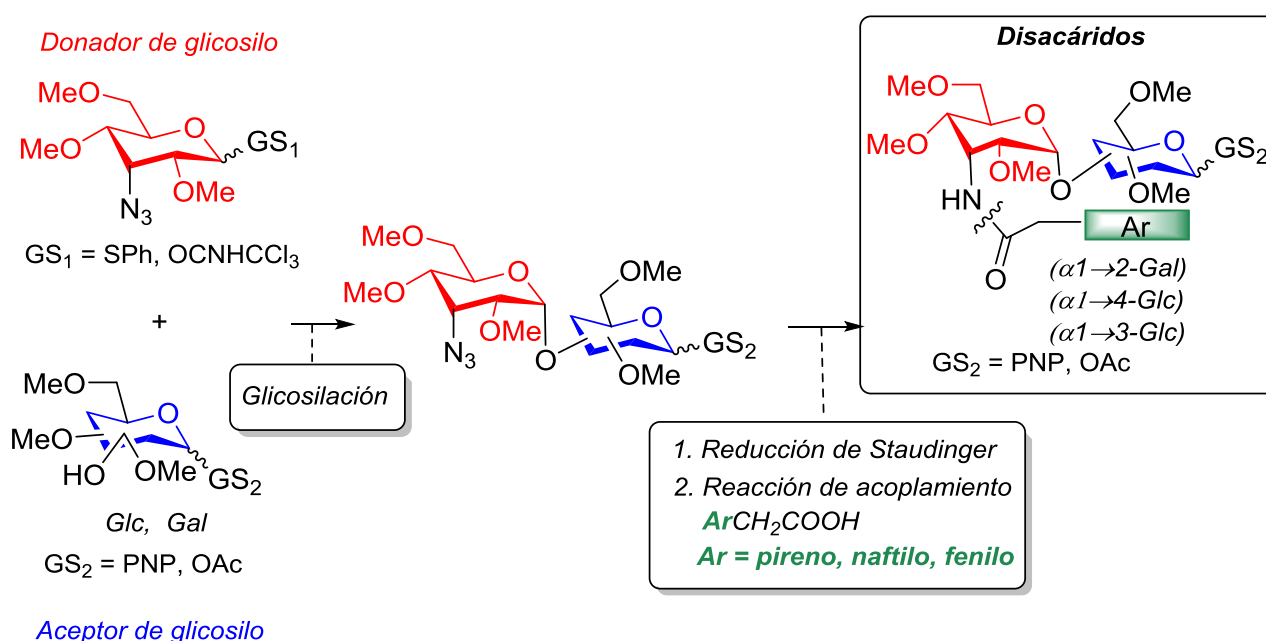
3.2.- SÍNTESIS DE LOS SISTEMAS MODELO I Y II.

3.2.1.- SÍNTESIS DE DISACÁRIDOS: SISTEMAS MODELO TIPO I.

3.2.1.1.- Metodología general para la síntesis de los disacáridos (Compuestos 1-9).

La estrategia general empleada en la síntesis de los disacáridos **1-9** se muestra en el Esquema 3.1 y consta de tres etapas. El paso clave de la misma consiste en una reacción de glicosilación e implica un donador común de alosa en forma de tiofenilo (**A7**) o tricloroacetimidato (**A9**), que incorpora una función azida en posición 3, esencial para el anclaje posterior de los diversos sistemas aromáticos. Como unidades aceptoras se emplearon residuos de glucosa o galactosa convenientemente funcionalizados y equipados con una función lábil en posición anomérica (**B7a**, **B7b**, **C10** y **D5**). Las condiciones de reacción fueron cuidadosamente optimizadas en cada caso para favorecer la formación de enlaces glicosídicos α .

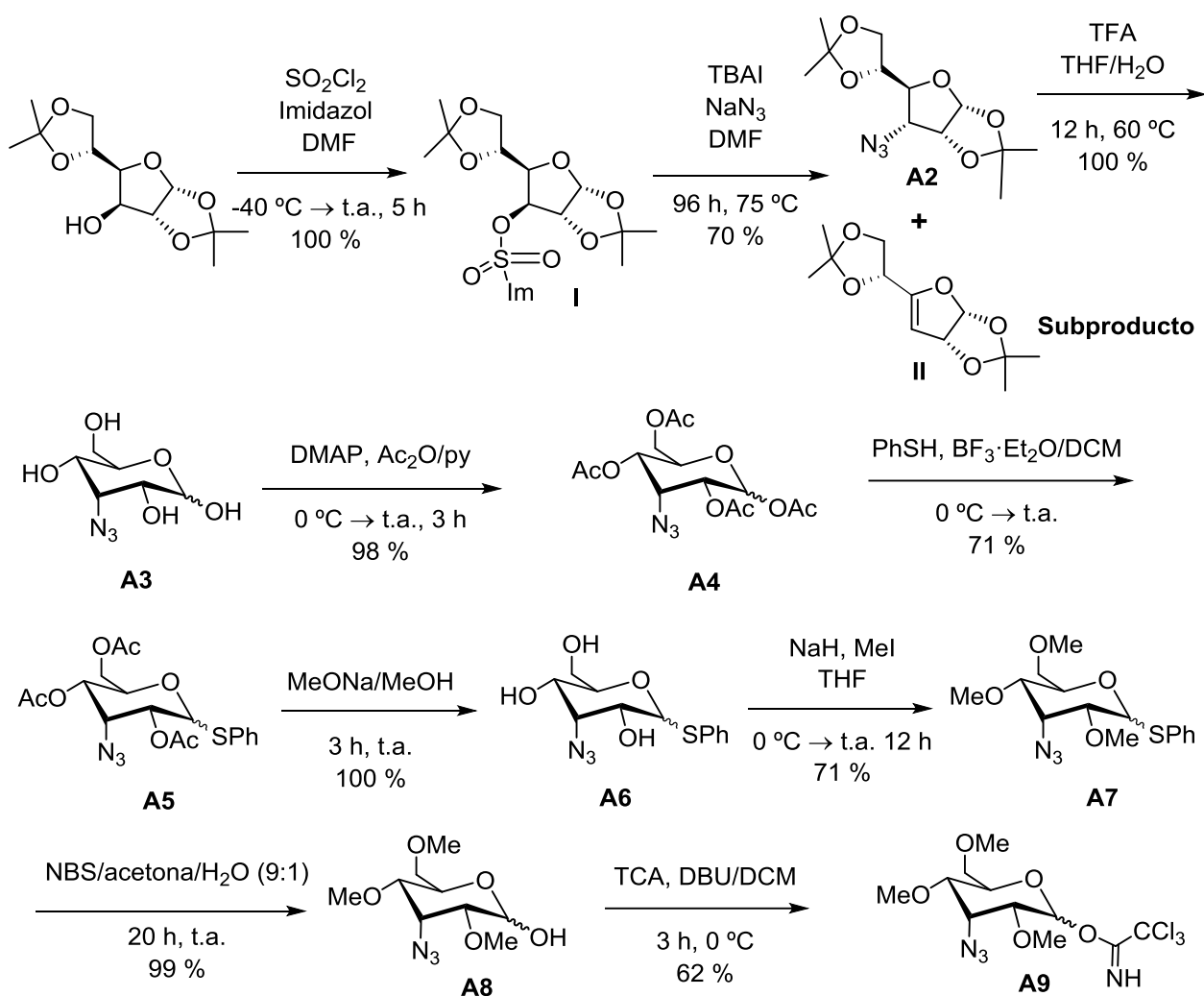
Una vez generados los diversos armazones disacáridicos procedimos, como segundo paso, a la reducción de la función azida, empleando para ello condiciones de Staudinger. Finalmente, se realizaron reacciones de acoplamiento sobre la amina resultante para generar los productos objetivo finales (**1-9**).



Esquema 3.1.- Estrategia general empleada en la síntesis de los disacáridos (compuestos 1-9).

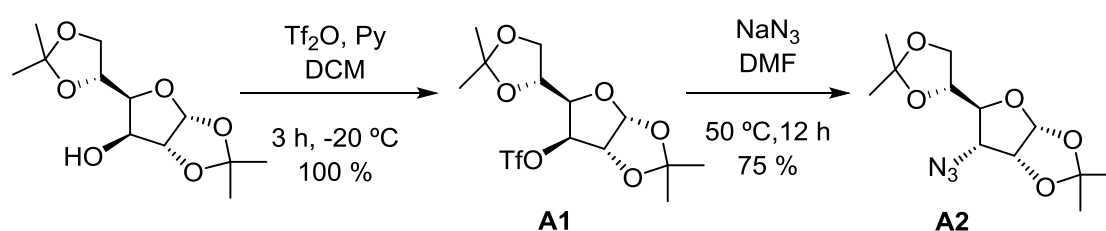
3.2.1.2.- Síntesis de los donadores de glicosilo A7 y A9.

Para la obtención de los donadores de glicosilo se empleó la metodología mostrada en el Esquema 3.2, parcialmente desarrollada por nuestro grupo de investigación en años anteriores.⁶ La aproximación empleada hace uso de un derivado de glucofuranosa protegido en las posiciones O-1, 2, 4 y 6, que es comercialmente accesible y económico a escala de multigramo. Esta elección presenta una ventaja adicional: la posición 3 del azúcar, sobre la cual se ha de introducir la función azida, está diferenciada desde el origen. Dicha introducción se consigue mediante una reacción de sustitución nucleófila bimolecular que, al proceder con inversión, proporciona la configuración D-alo- requerida en el producto final. Posteriormente el sistema se equilibrará a su forma más estable de piranosa, mediante tratamiento en medio ácido.



Esquema 3.2.- Metodología empleada en la síntesis de los donadores de glicosilo (A7 y A9).

Siguiendo esta estrategia general, se partió de 1,2:5,6-*di*-O-isopropiliden- α -D-glucofuranosa comercial, que tras un proceso de activación del hidroxilo libre con cloruro de sulfurilo e imidazol, seguido de una sustitución nucleófila bimolecular con azida sódica dio como resultado el derivado de alosa **A2**. Este método ofrece rendimientos moderados debido, en parte, a su cinética lenta que posibilita la progresión de reacciones secundarias tales como la beta-eliminación del sulfamidato (dando como subproducto, el derivado **II**). Con objeto de limitar dicho proceso se intentó llevar a cabo la reacción a menor temperatura, con un éxito moderado. Desafortunadamente, no se logró que el producto de partida se consumiera por completo, incluso mediante el uso del microondas como fuente de calefacción. Por este motivo, decidimos cambiar de estrategia sintética y activar en esta ocasión el grupo hidroxilo con anhídrido triflico. Dicha maniobra no solucionó el problema de la beta-eliminación, pero sí incrementó la velocidad del proceso, de forma que el producto de partida se consume totalmente en un tiempo inferior (Esquema 3.3).



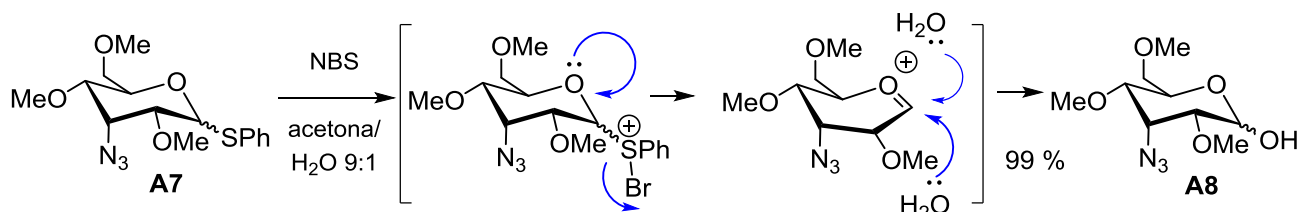
Esquema 3.3.- Estrategia alternativa empleada para la síntesis del derivado **A2.**

A continuación, se procedió a la desprotección de las funciones hidroxilo (del derivado **A2**) en medio ácido, lo que permitió obtener el derivado **A3** de forma cuantitativa. Teniendo en cuenta su elevada polaridad, este compuesto fue subsiguientemente per-*O*-acetilado con anhídrido acético en piridina para rendir el intermedio **A4** con un 98 % de rendimiento (Esquema 3.2). Seguidamente, se llevó a cabo la introducción del grupo tiofenilo en posición anomérica mediante una activación con trifluoruro de boro-eterato. De entre las diversas aproximaciones posibles descritas en la literatura para la introducción de un grupo tiofenilo en posición anomérica de una piranosa peracetilada, nos decantamos por esta ya que se trata de la más extendida, procede con buenos rendimientos, es relativamente económica e involucra reactivos de baja toxicidad. A modo de ejemplo, otros métodos alternativos requieren, el uso de

triflato de iridio (III), cloruro de estaño (IV) en benceno o yoduro de zinc (II) en diclorometano y posterior tratamiento con tiofenol y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.

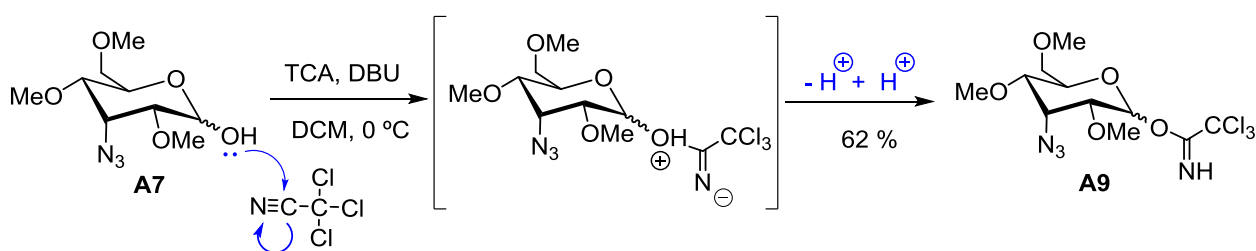
Como se ha mencionado anteriormente (sección 1.2.3), la presencia del grupo participante en la posición 2, debería rendir de forma casi exclusiva el anómero β . Sin embargo, el hecho de que **A4** incorpore un grupo voluminoso y polar en la posición contigua a C-2 (azida en este caso concreto en la posición 3), dificulta la formación del intermedio aciloxonio. Por este motivo, se obtuvo una mezcla de anómeros α/β 1:4.

Una vez obtenido el tioglicósido **A5**, los acetatos fueron eliminados en condiciones de Zemplén,⁹⁶ con MeONa en MeOH y el producto resultante fue permetilado con yoduro de metilo e hidruro sódico en DMF, proporcionando el donador de tipo tioglicósido **A7**, con un rendimiento del 71 %. Seguidamente llevamos a cabo una hidrólisis oxidante del tioglicósido **A7** para generar el hemiacetal **A8**. Dicha reacción transcurre a través de un intermedio de tipo bromosulfonio tal y como se muestra en el Esquema 3.4.



Esquema 3.4.- Mecanismo de la reacción de hidrólisis oxidante del derivado **A7**.

Finalmente, una vez obtenida la especie **A8**, su tratamiento con tricloroacetnitrilo en medio básico a baja temperatura, permitió preparar el tricloroacetimidato **A9** con un 62 % de rendimiento. El mecanismo de dicho proceso se muestra en el Esquema 3.5.

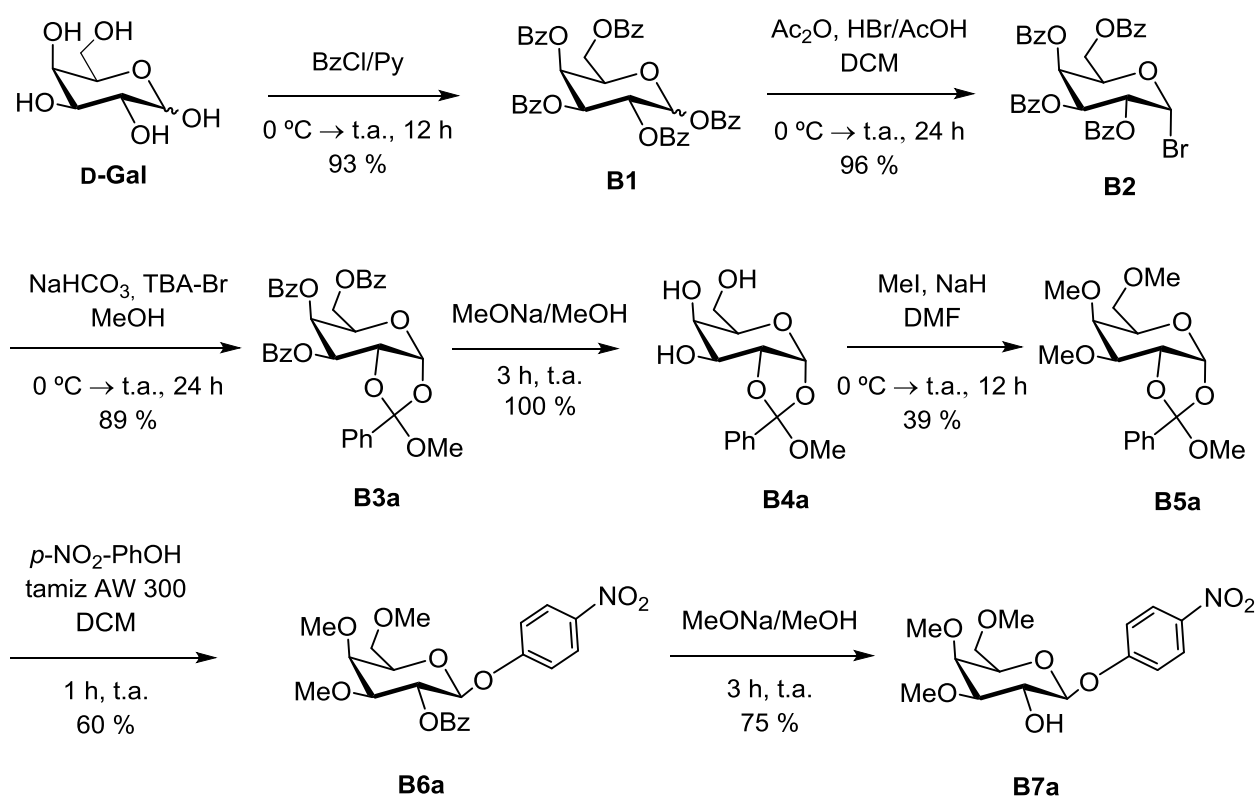


Esquema 3.5.- Mecanismo de la reacción de formación del donador de glicosilo **A9** de tipo tricloroacetimidato.

3.2.1.3.- Síntesis de los aceptores de glicosilo (B7a, B7b, C10, D5).

Síntesis del aceptor de glicosilo B7a.

El aceptor de glicosilo requerido para la síntesis de los disacáridos **1**, **2** y **4** con la posición 2 libre y un grupo *p*-nitrofenilo en posición anomérica, se obtuvo según la metodología mostrada en el Esquema 3.6.

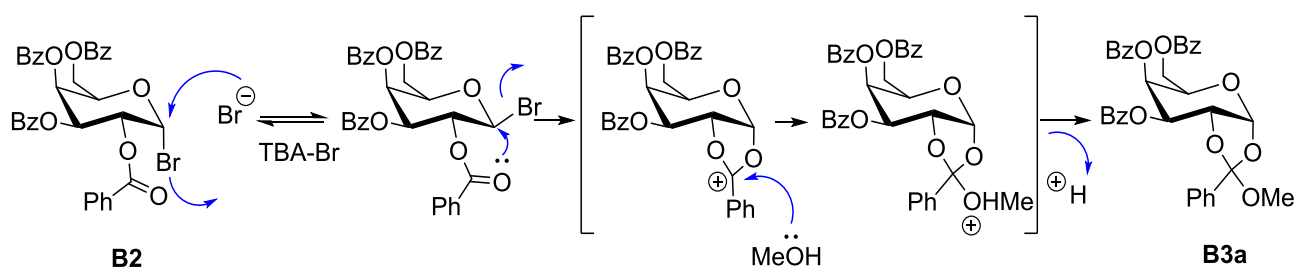


Esquema 3.6.- Estrategia sintética empleada en la síntesis del aceptor de glicosilo **B7a.**

El paso clave de la misma es la formación del ortoéster **B3a**. Cabe mencionar que el uso de ortoésteres constituye una estrategia común en química de carbohidratos ya que permite proteger de forma simultánea la posición anomérica y el hidroxilo de la posición 2 del azúcar. Así, en la bibliografía existen diversos métodos sintéticos que permiten la preparación de 1,2-ortoésteres de glicósidos.^{97,98,99,100,101} El más habitual consiste en la generación del correspondiente haluro de glicosilo peracetilado o perbenzoilado y su tratamiento con un alcohol en presencia de una sal de amonio cuaternaria y una base orgánica, como *sym*-colidina o 2,6-lutidina. A pesar del uso extendido de dicho procedimiento, este presenta como desventaja la necesidad de emplear una base orgánica tóxica. Recientemente ha sido descrito un método alternativo en la

bibliografía,¹⁰² más sencillo, menos contaminante, más rápido, y que habitualmente procede con mejores rendimientos. Este se basa en la utilización de bicarbonato sódico anhidro, una sal de amonio cuaternaria y un elevado número de equivalentes de alcohol (alrededor de 10). Sin embargo, como es lógico, esta metodología sólo resulta de utilidad con alcoholes asequibles económicamente. Para la preparación del derivado **B3a** nos decantamos por esta última opción empleando metanol como alcohol.

De acuerdo con esta estrategia general, para la síntesis del derivado **B3a** partimos de D-galactosa comercial. Como primer paso, se protegieron las diversas funciones hidroxilo mediante la introducción de grupos atractores de electrones. Si bien la elección más común para este fin es el grupo acetato, en este caso, nos decantamos por funciones benzoato ya que, en general, tienden a generar ortoésteres más estables. Este hecho es comúnmente atribuido a la capacidad del grupo benzoato de estabilizar la densidad de carga positiva del carbono bencílico de los mismos. Una vez obtenido el derivado **B1**, llevamos a cabo una sustitución anomérica del grupo benzoato por tratamiento de este con ácido bromhídrico, lo que condujo al compuesto **B2** con excelente rendimiento. Considerando la labilidad inherente a los bromuros de glicosilo, decidimos utilizar dicho derivado sin purificación previa, procediendo con la siguiente etapa sintética. Así, el tratamiento del mismo con metanol y NaHCO_3 en DCM, en presencia de bromuro de tetrabutilamonio, permitió la obtención del ortoéster de metilo **B3a** con un 89 % de rendimiento. El mecanismo comúnmente aceptado de dicha reacción se muestra en el Esquema 3.7.

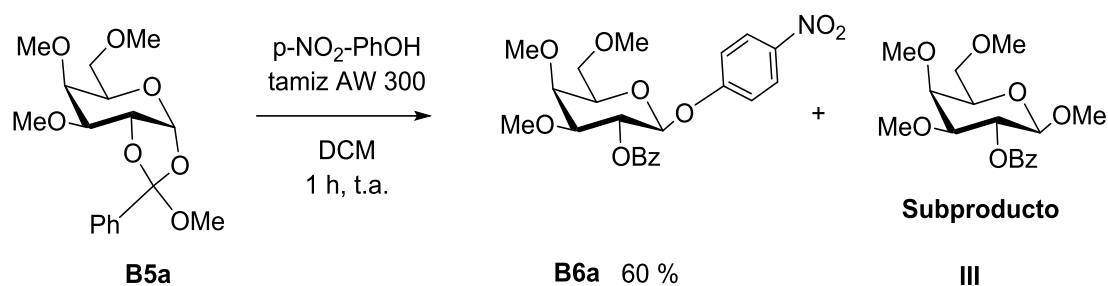


Esquema 3.7.- Mecanismo de la reacción de formación del ortoéster B3a.

De acuerdo con dicho esquema, el anión bromuro liberado por la sal de tetrabutylamonio, ataca a la posición anomérica del α -bromoglicósido, generando el correspondiente estereómero beta. El bromo anomérico es, a continuación, desplazado intramolecularmente por el grupo benzoato en posición 2 para dar un

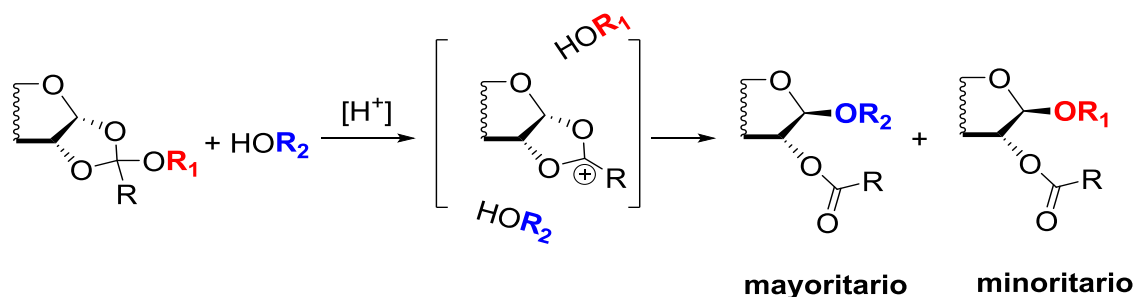
intermedio de tipo benciloxonio. Este es finalmente capturado por una molécula de metanol, formando el ortoéster deseado **B3a**.

Una vez sintetizado el ortoéster de metilo **B3a**, se eliminaron los grupos benzoato en condiciones de Zemplén, mediante el uso de una cantidad catalítica de MeONa generado *in situ*. A continuación, las funciones hidroxilo resultantes fueron protegidas en forma de metiléter mediante una eterificación de Williamson empleando MeI y NaH. De esta forma se obtuvo el compuesto **B5a** con un 39 % de rendimiento (Esquema 3.6). Posteriormente, **B5a**, fue tratado en medio ácido con el aceptor *p*-nitrofenol, lo que condujo a la apertura de la función ortoéster y la obtención del β -glicósido **B6a** con un 60 % de rendimiento. En este paso, además del compuesto **B6a**, se obtuvo como subproducto, el derivado metilado en posición anomérica **III** (esquema 3.8).



Esquema 3.8.- Apertura del ortoéster **B5a** para dar el producto **B6a** y el subproducto **III**.

La formación de este subproducto se explica por la competición establecida entre los dos nucleófilos presentes en el medio de reacción, el aceptor empleado en la glicosilación del ortoéster (en nuestro caso *p*-nitrofenol) y el alcohol expulsado durante el reagrupamiento (metanol en este caso particular). (Esquema 3.9).

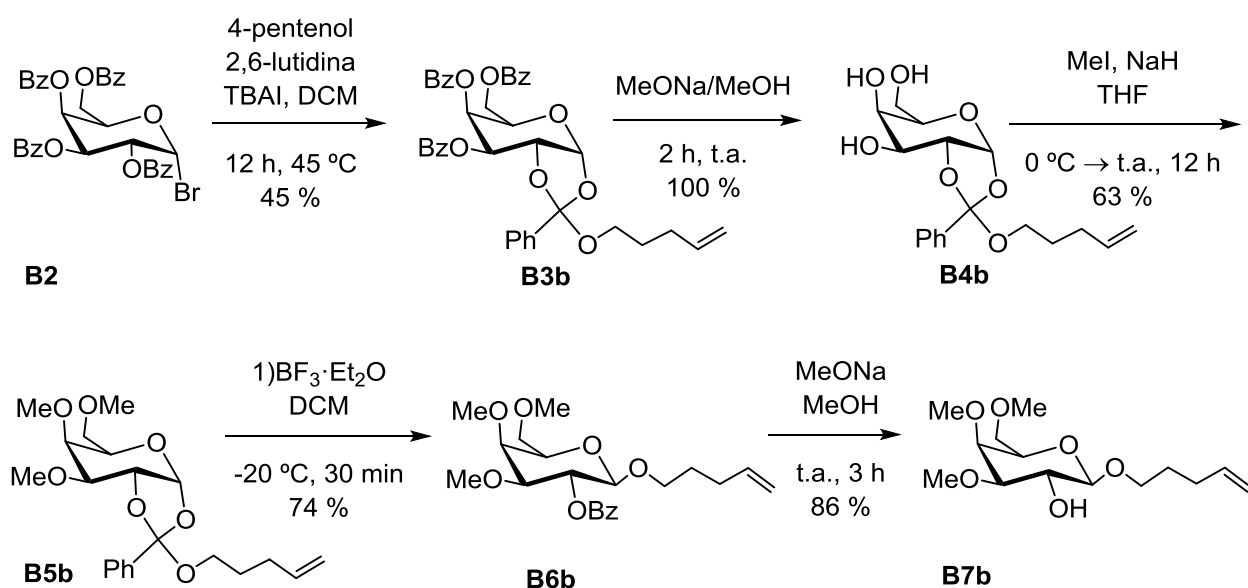


Esquema 3.9.- Justificación mecánica para la mezcla de derivados obtenida en la apertura de ortoésteres cuando los grupos R_1 y R_2 son distintos (ver texto principal).

Por último, la función benzoato del compuesto **B6a** fue eliminada mediante una reacción de transesterificación promovida por metóxido sódico en metanol, rindiendo el derivado **B7a**.

Síntesis del aceptor de glicosilo **B7b**.

El aceptor de glicosilo **B7b** incorpora un grupo versátil en posición anomérica que puede ser activado y eliminado selectivamente, y presenta la posición 2 del azúcar libre. Para su preparación se procedió según el Esquema sintético 3.10.



Esquema 3.10.- Estrategia sintética empleada en la síntesis del aceptor de glicosilo **B7b.**

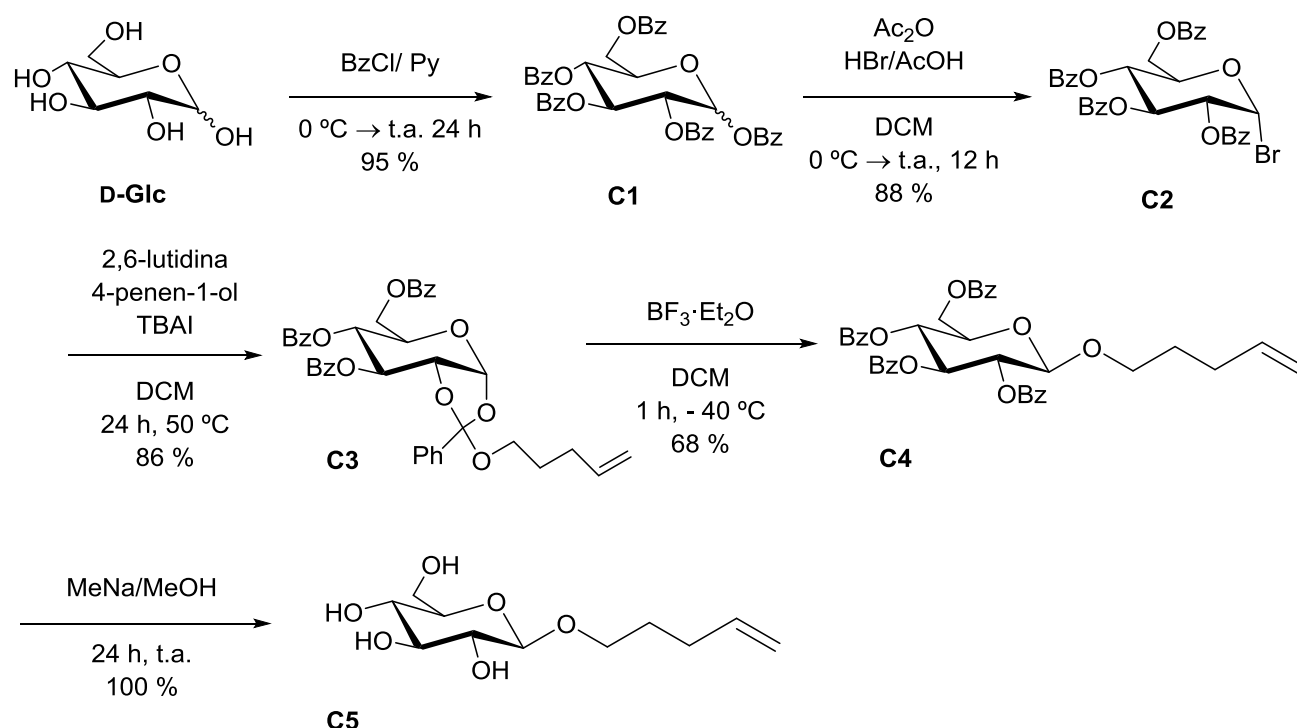
La síntesis del derivado **B7b** se llevó a cabo a partir de D-galactosa comercial, empleando una estrategia análoga a la ya descrita en el apartado anterior (ver Esquema 3.6). Es preciso mencionar, sin embargo, que la presencia de un grupo pentenilo en posición anomérica desaconseja el empleo del procedimiento experimental anteriormente utilizado para la formación del ortoéster ya que este requeriría un elevado número de equivalentes de un alcohol económicamente poco asequible. Por esta razón nos decantamos por una metodología más común para la obtención de estas funcionalidades. Así, por tratamiento del bromuro de glicosilo **B2** con 2,6-lutidina y alcohol pentenílico en presencia de TBAI en DCM, se obtuvo el ortoéster de pentenilo benzoilado **B3b** con un rendimiento del 45 %. Cabe mencionar que la incorporación en la función

ortoéster del mismo alcohol que se desea introducir en la posición anomérica tiene como ventaja suprimir las reacciones secundarias mencionadas en el Esquema 3.9.

Una vez obtenido el derivado **B3b**, se eliminaron los grupos benzoato por reacción con MeONa en MeOH para dar **B4b**. A continuación, se trató el derivado **B4b** con yoduro de metilo e hidruro sódico en THF, lo que permitió obtener el compuesto **B5b** con un 63 % de rendimiento. Posteriormente, se procedió al reagrupamiento del ortoéster en medio ácido para generar el derivado **B6b** con un resto pentenilo en la posición anomérica. Finalmente, por tratamiento de este con metóxido sódico, se obtuvo el aceptor de glicosilo **B7b** con un rendimiento del 86 %.

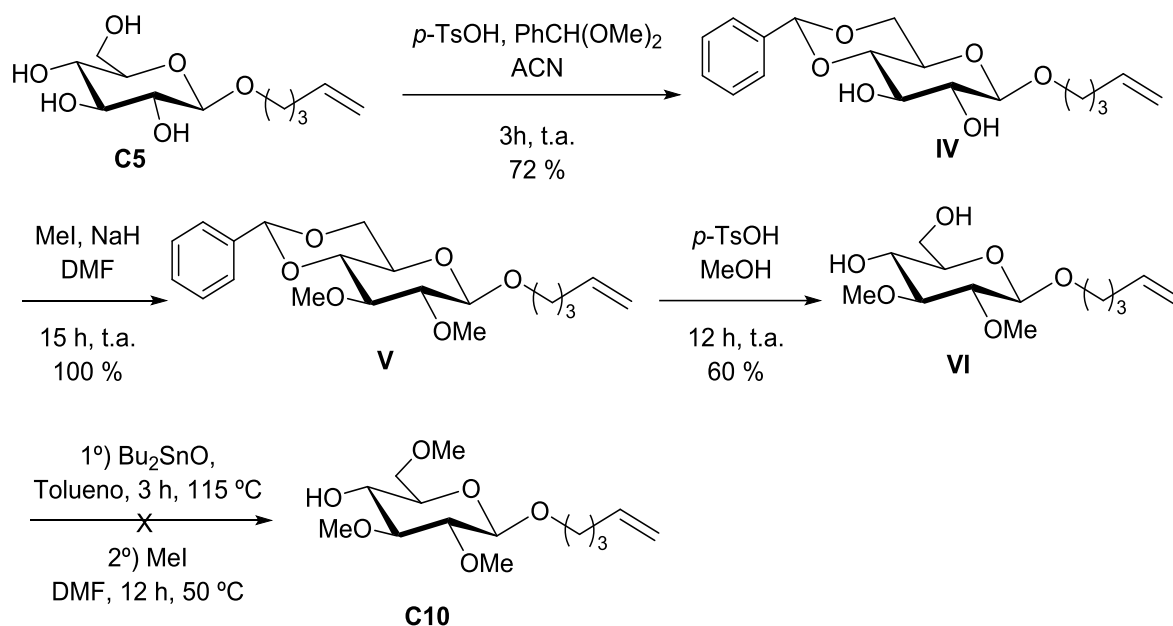
Síntesis del aceptor de glicosilo **C10**.

Para abordar la síntesis del aceptor de glicosilo **C10**, se partió de D-glucosa comercial y se aplicó una estrategia sintética general análoga a la descrita para el compuesto **B7b**. Los primeros pasos de dicho procedimiento se muestran en el Esquema 3.11.



Esquema 3.11.- Estrategia sintética empleada en la obtención del derivado **C5.**

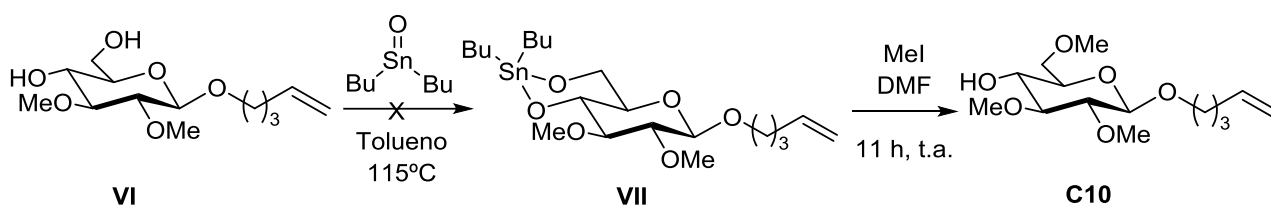
En primer lugar, se benzoilaron todas las posiciones del azúcar usando el método habitual descrito en la bibliografía para obtener **C1**. Su posterior tratamiento con HBr/AcOH (30 %) permitió preparar el derivado bromado correspondiente **C2** con excelente rendimiento. La reacción del mismo con alcohol pentenílico, 2,6-lutidina y TBAI se llevó a cabo en DCM anhidro a reflujo durante 24 horas, generándose el ortoéster de pentenilo **C3** con un rendimiento del 86 %. A continuación, se procedió al reagrupamiento del ortoéster **C3** por tratamiento con trifluoruro de boro-eterato en DCM a -40 °C. Dicha reacción nos permitió acceder al compuesto **C4** con un rendimiento del 68 %. La eliminación subsiguiente de los grupos benzoato en condiciones de Zemplén se llevó a cabo mediante la adición de una cantidad catalítica de sodio metálico al compuesto **C4** previamente disuelto en MeOH, lo que nos condujo al derivado **C5**. Llegados a este punto, se intentó diferenciar la posición 4 del aceptor (**C5**) siguiendo un procedimiento descrito en la bibliografía¹⁰³ para un compuesto similar. Dicha aproximación se muestra en el Esquema 3.12.



Esquema 3.12.- Estrategia sintética ensayada en la síntesis del aceptor de glicosilo **C10.**

De acuerdo con ella, el compuesto **IV** protegido en posiciones 4 y 6 fue generado por reacción del derivado pentenílico **C5** con $p\text{-TsOH}$ y benzaldehído dimetilacetal en ACN a temperatura ambiente durante 3 horas. Posteriormente, las posiciones 2 y 3 fueron protegidas en forma de metiléter según el procedimiento habitual, lo que rindió el compuesto deseado **V**. A continuación, la

eliminación del grupo bencilideno por tratamiento con *p*-TsOH en MeOH nos llevó al diol **VI** que presenta las posiciones 4 y 6 libres, en un proceso que transcurre con un 60 % de rendimiento. Desafortunadamente todos nuestros intentos de preparar el aceptor **C10** a partir de este punto resultaron infructuosos. El método proyectado implicaba un tratamiento con óxido de dibutilestaño (Bu_2SnO), seguido de la adición de yoduro de metilo e hidruro sódico.¹⁰³ En principio, dicho protocolo debía promover la formación del acetal de Sn (derivado **VII**), que posteriormente sufriría una alquilación selectiva en posición 6 (Esquema 3.13). La regioselectividad del proceso sería esperable en base a la diferente naturaleza entre los dos tipos de alcoholes: uno primario, y por tanto más reactivo frente a uno secundario.

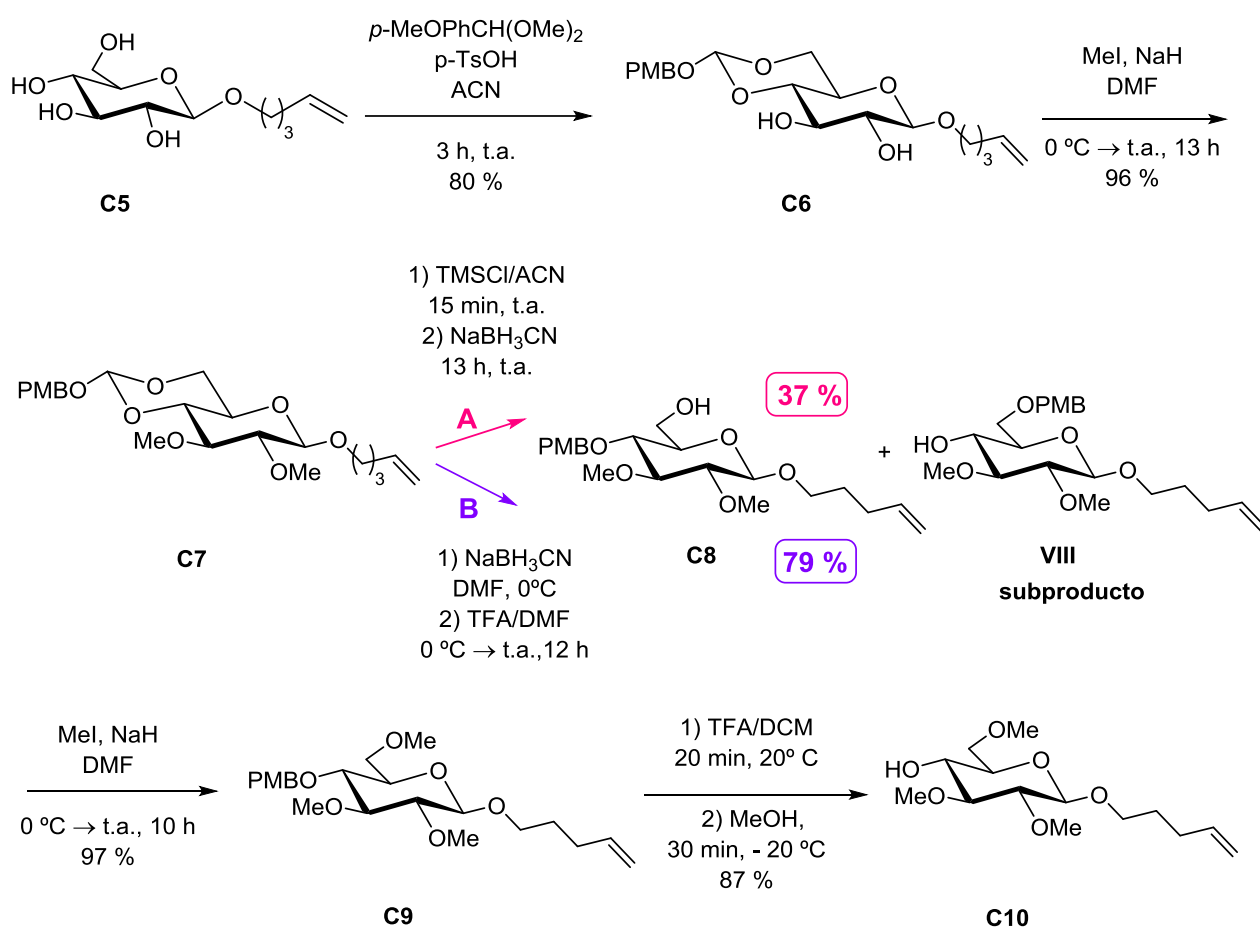


Esquema 3.13.- Estrategia de protección selectiva del hidroxilo en posición 6 mediada por Bu_2SnO .

Sin embargo, a pesar de nuestros esfuerzos en este sentido, el primer paso para la generación del complejo metálico nunca tuvo lugar, recuperándose el compuesto dihidroxilado de partida (**VI**). Este revés, nos hizo replantearnos la ruta sintética original y buscar nuevas alternativas.

Así, siguiendo el esquema 3.14, se procedió a la bencilidenación del producto **C5** con *p*-anisaldehído dimetilacetal y *p*-TsOH en ACN anhidro. Después de tres horas de reacción a temperatura ambiente, se obtuvo el compuesto **C6** con un 80 % de rendimiento. Posteriormente, se protegieron las posiciones 2 y 3 del glicósido de pentenilo mediante tratamiento con yoduro de metilo e hidruro sódico en DMF. Se obtuvo así, tras su purificación en cromatografía de gel de sílice, el derivado **C7**. Llegados a este punto se exploraron dos rutas alternativas descritas en la bibliografía.^{31,104} Dichos protocolos permiten en principio la apertura selectiva de bencilidenos hacia la posición 4 dejando libre el hidroxilo primario, si bien también es previsible la formación de una cierta cantidad del subproducto con la posición 4 libre. La primera prueba, consistió en el

tratamiento del azúcar con NaBH_3CN y TMSCl en ACN anhidro, a temperatura ambiente durante toda la noche. En este caso, se obtuvo un rendimiento del 45 % para el compuesto no deseado con el hidroxilo 4 libre (**VIII**) y un 37 % para el derivado **C8**. El segundo ensayo, consistió en el tratamiento del derivado **C7** con NaBH_3CN y TFA en DMF anhidra, a temperatura ambiente durante toda la noche. En esta ocasión, la formación del subproducto (**VIII**) se redujo a un 7 %, obteniéndose **C8** con un 79 % de rendimiento. A la vista de estos resultados, nos decantamos por el segundo método a la hora de escalar la reacción.

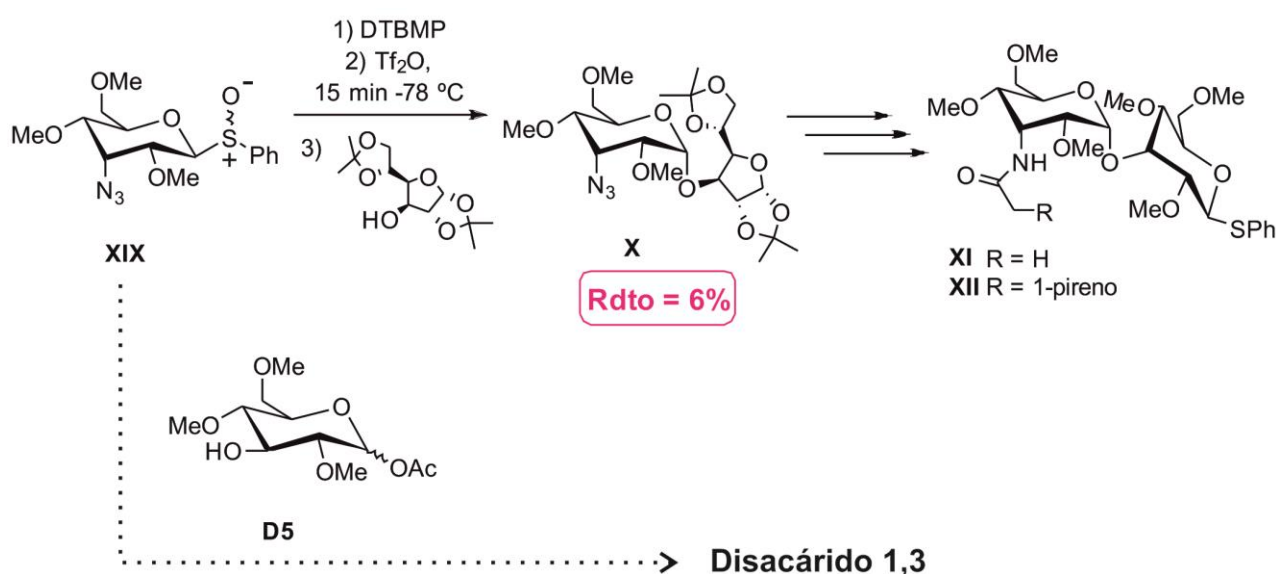


Esquema 3.14.- Estrategia sintética empleada en la síntesis del aceptor de glicosilo **C10: rutas sintéticas alternativas ensayadas (A y B) para la apertura selectiva del bencilideno **C7** con liberación del hidroxilo en posición 6.**

Una vez preparado **C8**, se transformó el hidroxilo libre en metiléter dando lugar al derivado **C9** con un 97 % de rendimiento. Finalmente, se eliminó la función p -metoxibencil-éter en medio ácido para rendir el aceptor de glicosilo **C10** deseado.

Síntesis del aceptor de glicosilo D5.

Como primer punto es preciso mencionar que los intentos iniciales de preparación los disacáridos **XI** y **XII** hacían uso de galactósido comercial como aceptor, no siendo preciso, por lo tanto, la preparación de ningún aceptor más elaborado. Dicha aproximación (representada en el Esquema 3.15) está basada en trabajos de David Crich y colaboradores⁵⁵ de acuerdo con los cuales, es posible glicosilar con la estereoselectividad deseada (α o β), empleando donadores de tipo sulfóxido. Así, partiendo de α -glicosil sulfóxidos podría prepararse mayoritariamente el producto de inversión en la posición anomérica, añadiendo en primer lugar la base y el anhídrido triflico, y en segundo lugar el aceptor de glicosilo. Por el contrario, si lo que se desea es el derivado con retención de la configuración en la posición anomérica (α), el donador y el aceptor de glicosilo deben ser disueltos conjuntamente, adicionando el Tf_2O en último lugar. Si bien es cierto que, en dicho trabajo, las conclusiones descritas se refieren a derivados de α -manosa protegida con un grupo bencilideno, y por tanto sus resultados prodrían no ser directamente extrapolables a nuestros sistemas, nos vimos tentados a explorar esta vía, ya que, de tener éxito, permitiría acceder al disacárido con la configuración deseada en tan sólo una etapa. Desafortunadamente, la reacción con la glucofuranosa rindió el derivado **X** con tan solo un 6 % de rendimiento. Por ello, nos vimos obligados a abordar la síntesis del compuesto deseado empleando una metodología alternativa más tradicional que requiere la preparación del aceptor de glicosilo **D5**.

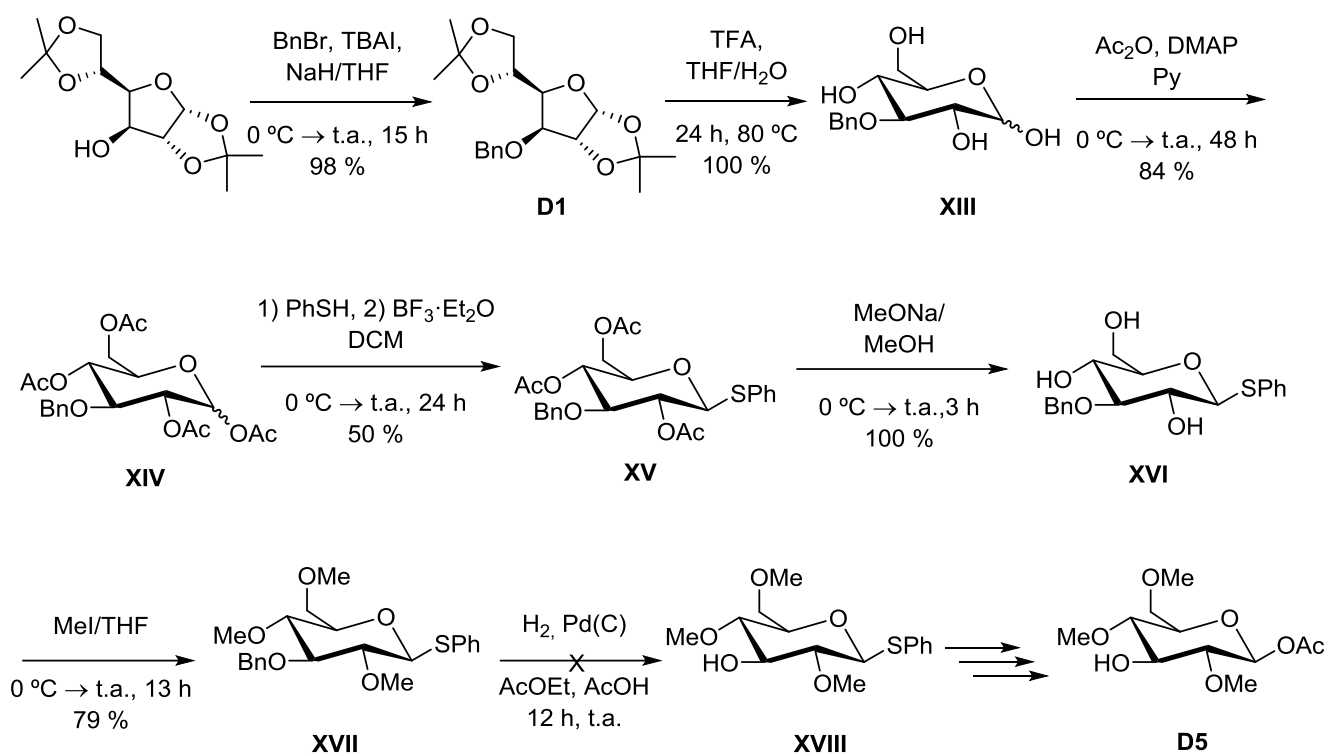


Esquema 3.15.- Primera estrategia sintética explorada para la síntesis de los disacáridos 1, 3.

La preparación de dicho compuesto supuso un considerable esfuerzo sintético, siendo precisa la exploración de diversas rutas hasta encontrar la vía adecuada. Las estrategias planteadas a tal efecto se muestran en los Esquemas 3.16-3.18 y se detallan a continuación:

Ruta 1:

Para esta aproximación partimos de diacetona glucosa comercial. Dicho producto de partida presenta la clara ventaja de tener la posición 3 del azúcar diferenciada desde el origen. De hecho, esta suele ser la elección más habitual cuando se pretende trabajar sobre la posición 3 exclusivamente. Sin embargo, plantea como mayor inconveniente presentar el azúcar en la forma de furanosa, que posteriormente, se ha de equilibrar a la piranosa correspondiente.



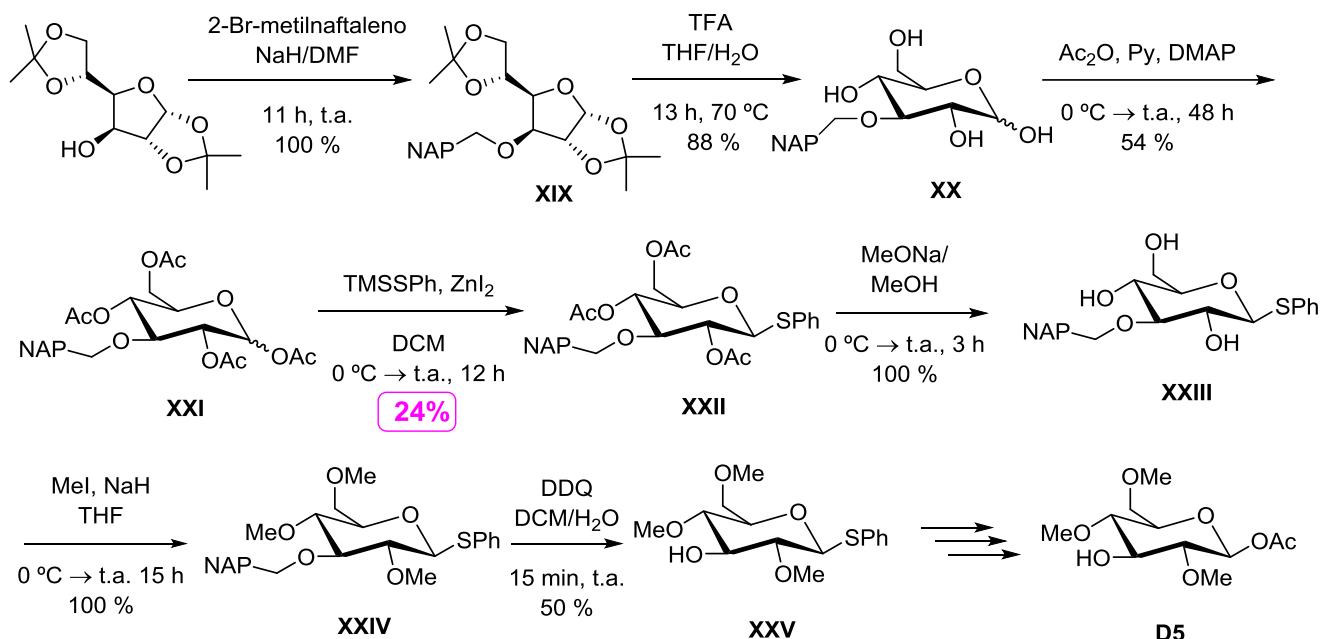
Esquema 3.16.- Estrategia sintética (Ruta 1) empleada en la síntesis del aceptor **D5.**

De acuerdo con el procedimiento especificado en el Esquema 3.16, partimos de 1,2:5,6-di-O-isopropiliden- α -D-glucofuranosa comercial, que por tratamiento con bromuro de bencilo, TBAI y NaH en THF, proporcionó el correspondiente derivado bencilado (**D1**) con excelente rendimiento. La hidrólisis del mismo en medio ácido dio lugar a la piranosa con todos sus hidroxilos libres (**XIII**), excepto

el de la posición 3. A continuación, se acetilaron dichos hidroxilos por tratamiento con anhídrido acético en piridina. El tratamiento del derivado resultante (**XIV**) con PhSH, y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ nos permitió preparar el tioglicósido correspondiente (**XV**) con un 50 % de rendimiento. A continuación, se eliminaron los grupos acetato en condiciones de Zemplén y las funciones hidroxilo resultantes fueron protegidas en forma de metil-éter. Sin embargo, en la última etapa de dicha síntesis, la desprotección del grupo bencilo (derivado **XVII**) mediante hidrogenólisis catalizada por paladio no fue posible, con independencia de la proporción de catalizador, el disolvente o la presión de hidrógeno empleados. Decidimos, por tanto, ensayar una estrategia alternativa.

Ruta 2:

Tal y como ya se hizo en la ruta 1, decidimos partir de diacetona glucosa comercial, protegiendo esta vez la posición 3 con un grupo alternativo. El grupo elegido en esta ocasión fue el naftilo ya que, a diferencia del grupo OBn anteriormente ensayado, puede ser eliminado en condiciones oxidantes, empleando por ejemplo DDQ, (Esquema 3.17).



Esquema 3.17.- Estrategia sintética (Ruta 2) empleada en la síntesis del aceptor **D5.**

Partimos, por tanto, de 1,2:5,6-di-*O*-isopropiliden- α -D-glucofuranosa comercial. La reacción de esta con 2-bromometilnaftaleno e hidruro sódico en

DMF permitió obtener el compuesto protegido en posición 3 con un grupo naftilo (**XIX**) de forma cuantitativa. El tratamiento posterior del mismo con TFA en una mezcla 2:1 THF/H₂O, dio lugar a la apertura de la furanosa. El compuesto resultante fue peracetilado, empleando el método habitual, para rendir el derivado **XXI** con un 54 % de rendimiento. A continuación, procedimos a la sustitución del grupo acetato en posición anomérica por un grupo tiofenilo. Considerando la labilidad del grupo naftilo en medios ácidos decidimos evitar el método más comúnmente empleado, basado en la utilización de PhSH y BF₃·Et₂O, recurriendo, como condiciones alternativas, a TMSSPh y yoduro de zinc (ZnI₂) en DCM anhidro. Aunque el TMSSPh presenta mayor nucleofilia que el tiofenol, el tioglicósido **XXII** se obtuvo con tan solo un 24 % de rendimiento. A pesar de ello decidimos proseguir con la ruta sintética proyectada (Esquema 3.17). Así, una vez obtenido el tioglicósido con la posición 3 protegida, se eliminaron los grupos acetato en medio básico y las funciones hidroxilo libres fueron protegidas en forma de metiléter. Por último, con el fin de eliminar el naftil-éter situado en posición 3 de la piranosa, se empleó DDQ en una mezcla DCM/H₂O 3:1, lo que generó la molécula objetivo deseada (**XXV**) con un 50 % de rendimiento.

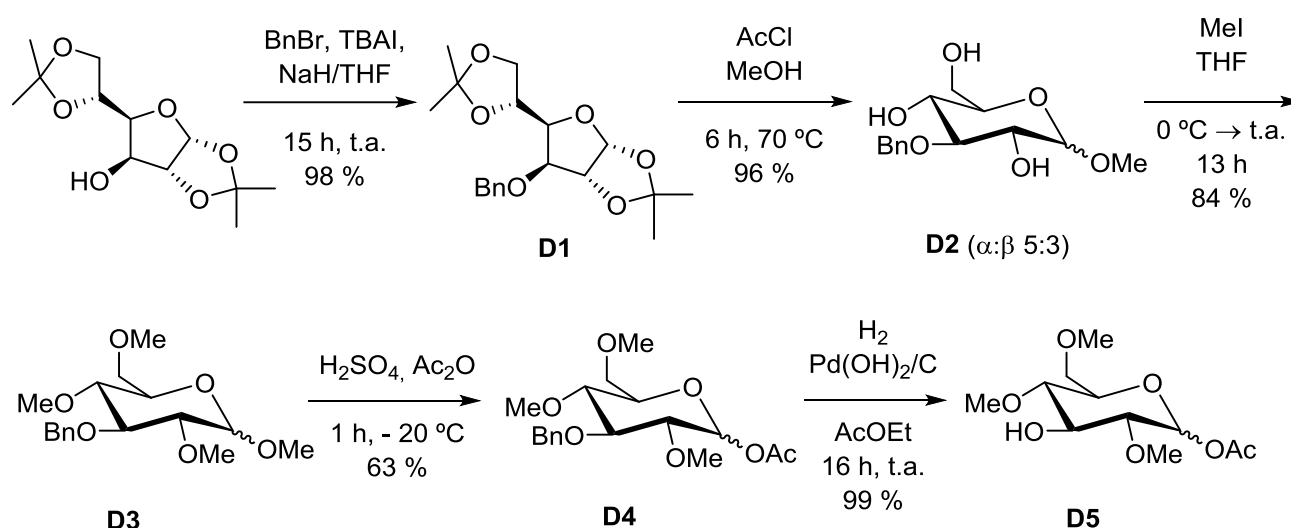
A pesar de que la estrategia diseñada permitió obtener el precursor inmediato a **D5**, su limitado rendimiento global, determinado en buena medida por las dificultades en la obtención del tioglicósido **XXII**, así como por el paso de desprotección final, en conjunción con la necesidad de escalar la reacción, nos hizo plantearnos una tercera aproximación.

Ruta 3:

Los esfuerzos sintéticos realizados en nuestro primer intento de acceder a **D5** (descritos en el Esquema 3.16, Ruta 1) fracasaron en el último paso debido a la imposibilidad de desproteger la posición 3 de la piranosa mediante hidrogenólisis. Durante el transcurso de la presente tesis doctoral, descubrimos que la presencia de un grupo SPh en el glicósido envenena el catalizador de paladio, y por tanto, la reacción de desprotección del grupo OBn no progresa. Teniendo esto en cuenta decidimos rediseñar la ruta sintética, incorporando una función alternativa en posición anomérica (Esquema 3.18).

Dado que el compuesto final debe presentar un grupo acetato en posición anomérica, nos decantamos por introducir esta funcionalidad desde el principio. De acuerdo con esto, se partió de 1,2:5,6-di-*O*-isopropiliden- α -D-glucofuranosa

comercial que, por tratamiento con bromuro de bencilo, TBAI y NaH en THF, condujo al derivado **D1** con un 98 % de rendimiento. Por reacción del mismo con cloruro de acetilo en metanol a reflujo durante 6 h, se obtuvo el compuesto **D2** con un 96 % de rendimiento, como una mezcla de anómeros α/β 5:3. A continuación, las posiciones libres se protegieron en forma de metiléter por tratamiento con yoduro de metilo e hidruro sódico en THF para dar el derivado **D3**. Posteriormente, mediante una reacción de acetólisis, se obtuvo el derivado con la posición anomérica acetilada (**D4**). Por último, este se sometió a una reacción de hidrogenólisis promovida por hidróxido de paladio sobre carbono en acetato de etilo, rindiendo el compuesto **D5** de forma cuantitativa. Cabe destacar que la aproximación finalmente empleada se caracteriza por su reducido número de etapas, así como por los buenos rendimientos de las mismas.



Esquema 3.18.- Estrategia sintética (Ruta 3) empleada en la síntesis del aceptor **D5.**

3.2.1.4.- Síntesis de disacáridos (1-9).

Una vez sintetizados los donadores **A7** y **A9**, así como los aceptores de glicosilo **B7a**, **B7b**, **C10** y **D5**, se procedió a su acoplamiento mediante reacciones de glicosilación. Para ello, empleamos protocolos alternativos, debidamente optimizados para cada tipo de donador.

Síntesis de los sistemas modelo 1, 2 y 4.

En la Figura 3.5 se muestran los tres disacáridos objetivo que comparten un armazón común de alosa- α (1 \rightarrow 2)-galactosa. Puede apreciarse como estos difieren únicamente en la naturaleza del residuo anclado a la posición 3 de la alosa.

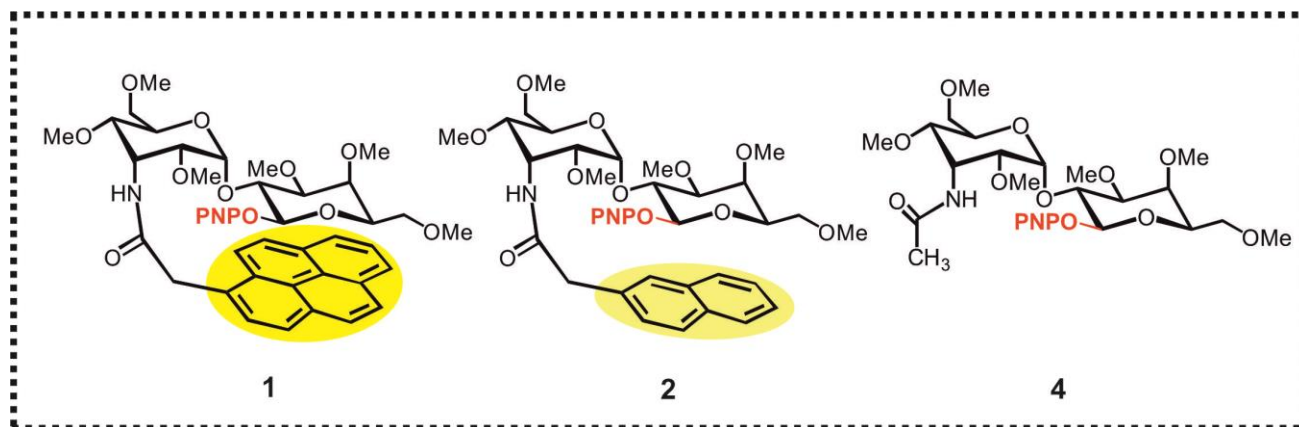
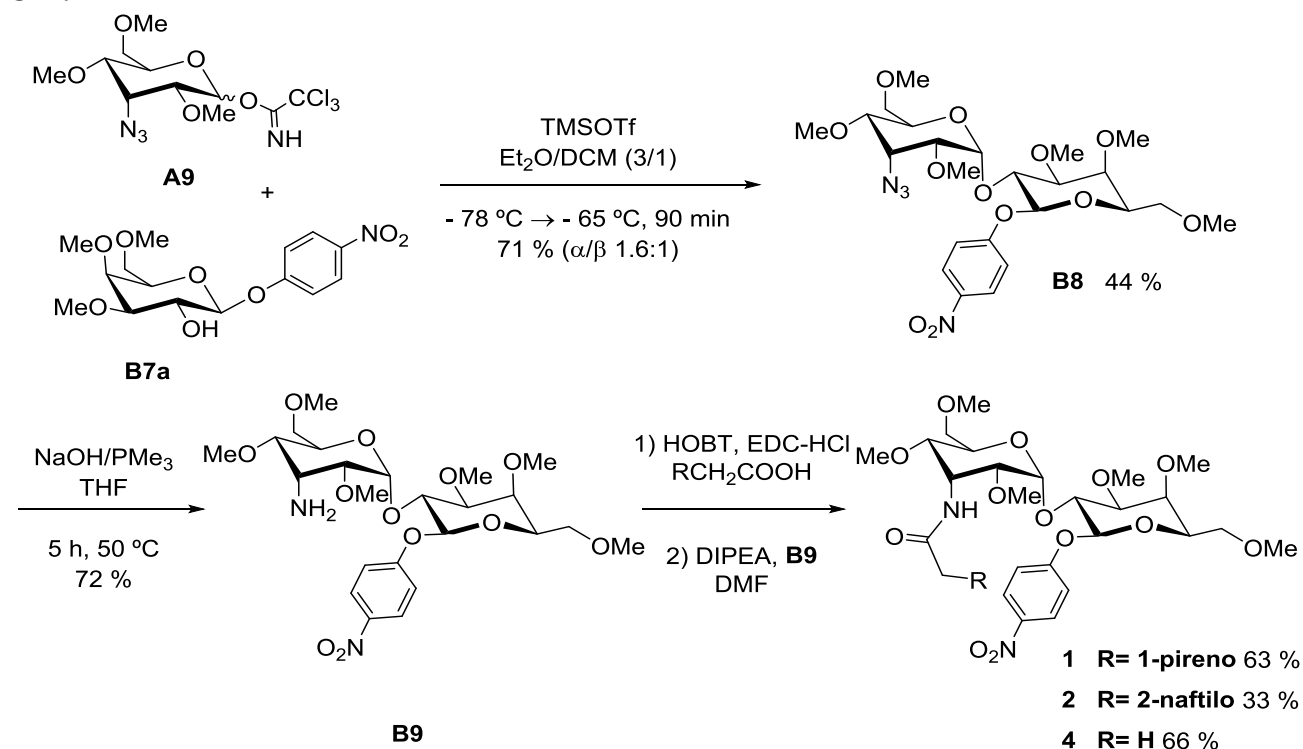


Figura 3.5.- Estructura de los disacáridos 1, 2 y 4 sintetizados.

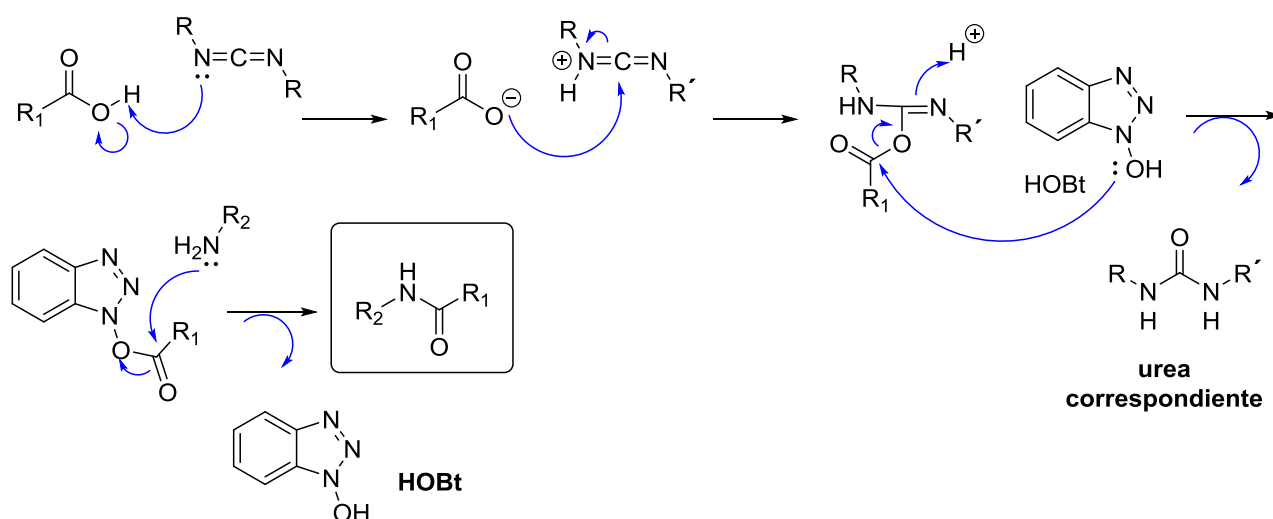
La ruta sintética planteada para su obtención se muestra en el Esquema 3.19.



Esquema 3.19.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los disacáridos de alosa- α (1 \rightarrow 2)-galactosa con *p*-nitrofenilo en posición anomérica (modelos 1, 2 y 4).

En primer lugar, se procedió al acoplamiento del aceptor de glicosilo **B7a** con un donador de tipo tricloroacetimidato (**A9**) mediante una reacción de glicosilación empleando como promotor TMSOTf y una mezcla Et₂O/DCM 3:1 como disolvente. La elección de éter como componente mayoritario se justifica en base a la necesidad de obtener de forma predominante el anómero α (ver apartado 1.2.4). Sin embargo, fue precisa la adición de una pequeña cantidad de DCM para lograr la solubilización de los reactivos a baja temperatura. De este modo, obtuvimos, tras un proceso de purificación por cromatografía en columna de gel de sílice, el disacárido α (1 \rightarrow 2) **B8** con un rendimiento del 44 % acompañado del correspondiente anómero β con un 27 %. A continuación, llevamos a cabo una reducción de Staudinger con el fin de transformar el grupo azida en amina. Para ello, se trató el disacárido **B8** con PMe₃ en THF y NaOH acuoso.

En este punto, procedimos a realizar una reacción de acoplamiento con tres ácidos carboxílicos diferentes (ácido 1-pirenoacético, ácido 2-naftilacético y ácido acético) promovida por EDC y HOBT como agentes de acoplamiento. El mecanismo general que opera en dicho proceso se detalla en el Esquema 3.20.



Esquema 3.20.- Mecanismo de la reacción de acoplamiento entre ácidos y aminas promovido por EDC y HOBT.

De acuerdo dicho esquema, la reacción se inicia mediante un ataque nucleófilo por parte del ácido carboxílico (desprotonado en presencia de EDC) al nitrógeno de la carbodiimida, formándose así la especie intermedia activada. A continuación, el carbono carbonílico del ácido carboxílico es atacado por el grupo hidroxilo del HOBT, desprendiéndose la correspondiente urea, lo que da lugar a

un segundo intermedio con una eletrofilia exaltada. Ello es debido a la aromaticidad del nuevo derivado y su posibilidad de deslocalización de carga. Finalmente, tras la adición de la amina junto con DIPEA, se produce un nuevo ataque nucleófilo a dicho carbono, dando lugar a la correspondiente amida. De este modo, se completó la síntesis de tres sistemas modelo (**1**, **2** y **4**) con armazón de alosa- α (1 \rightarrow 2)-galactosa con rendimientos del 63, 33 y 66 %, respectivamente.

Síntesis de los sistemas modelo 3 y 5.

En la Figura 3.6 se muestran los dos modelos sintetizados con armazón de alosa- α (1 \rightarrow 2)-galactosa y acetato en como grupo anomérico saliente. La ruta sintética planteada se representa en el esquema 3.21.

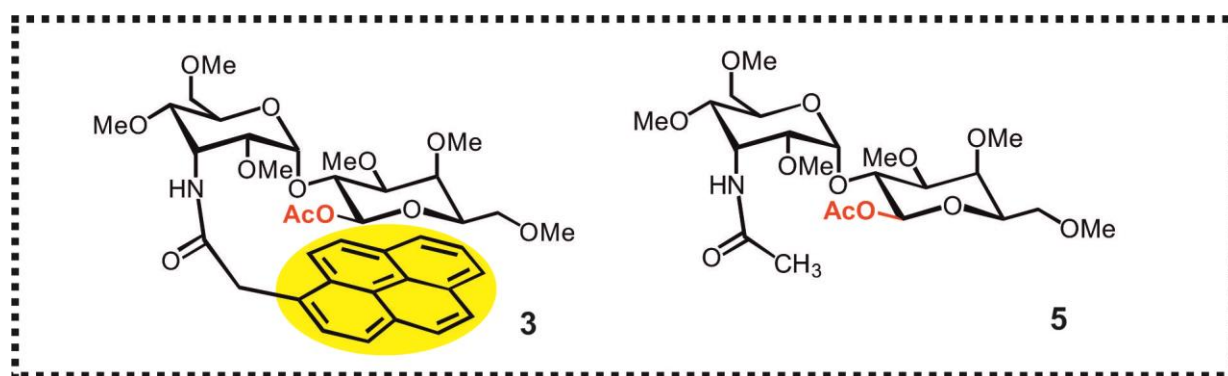
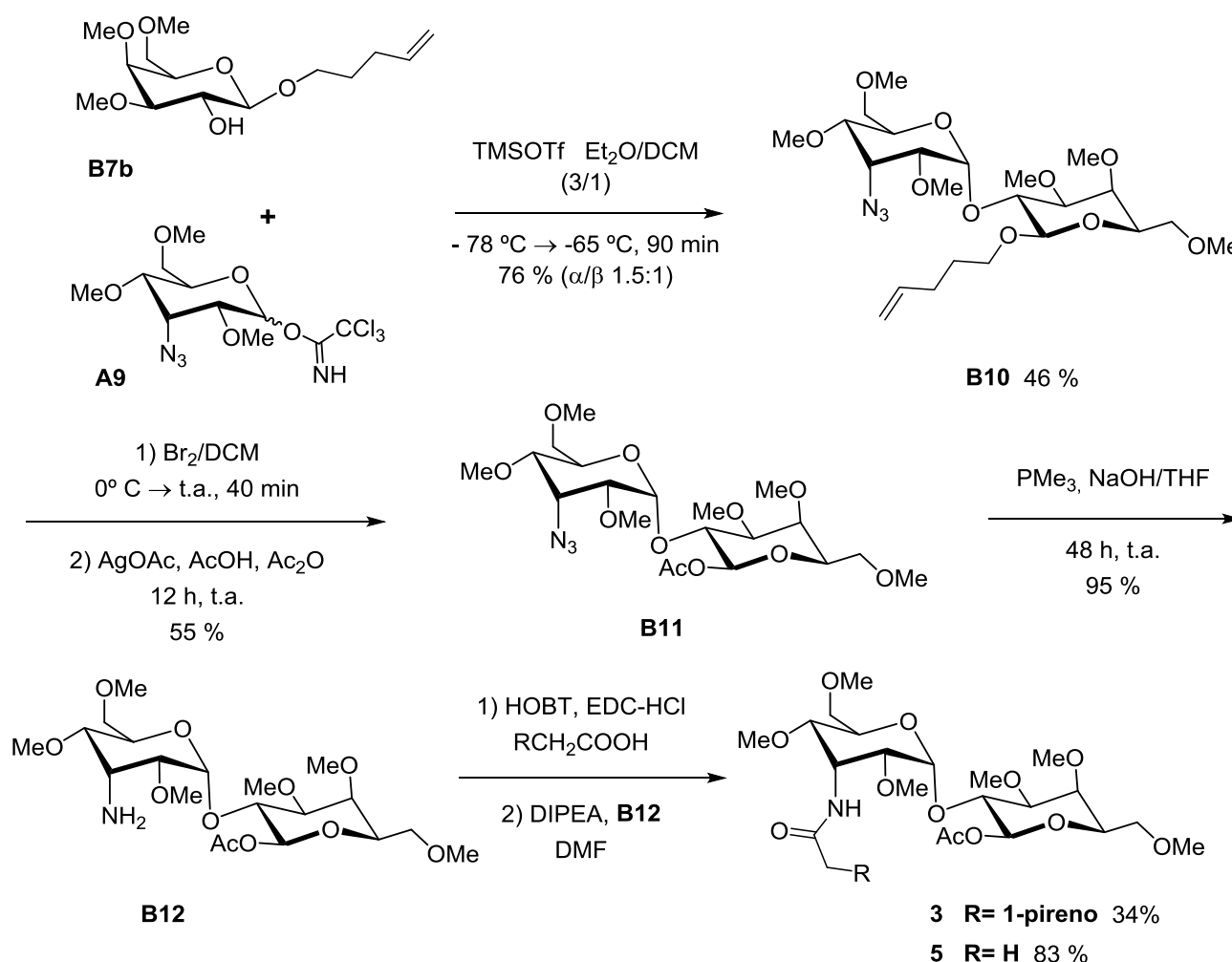


Figura 3.6.- Estructura de los disacáridos 3 y 5 sintetizados.

La síntesis del compuesto **B10** se llevó a cabo de forma análoga a la previamente expuesta para el compuesto **B8**. Así, llevamos a cabo una reacción de glicosilación empleando el donador **A9**, el aceptor **B7b** y condiciones experimentales idénticas a las anteriormente detalladas. De este modo se obtuvo el disacárido **B10** con un rendimiento del 46 %, junto con un 30 % del correspondiente anómero β . Puede observarse como, a pesar de su proximidad a la función OH aceptora en posición 2 de galactosa, el sustituyente anomérico (un grupo pentenilo) parece ejercer una influencia menor sobre el curso de la reacción. De hecho, tanto las estereoselectividades como los rendimientos obtenidos son comparables a los anteriormente descritos para **B8** (con un *p*-nitrofenilo en posición anomérica).

Una vez obtenido el compuesto **B10**, se procedió a la sustitución del grupo pentenilo anomérico por una función acetato.¹⁰⁵ Para ello, se formó en primer

lugar el derivado bromado por tratamiento del pentenil-derivado con bromo molecular en DCM. En segundo lugar, realizamos una sustitución nucleófila sobre el centro anomérico con acetato de plata, lo que condujo al derivado **B11**. La subsiguiente reducción de Staudinger convirtió la azida en amina libre (**B12**) sobre la que, a continuación, se realizó el acoplamiento mediado por EDC y HOBt, de ácido 1-pirenoacético, para la obtención del derivado **3**, (con un 34 % de rendimiento) o de ácido acético para la obtención del derivado **5** (con un 83 % de rendimiento).



Esquema 3.21.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los disacáridos **3 y **5**.**

Síntesis de los sistemas modelo 6 y 7.

Los dos modelos sintetizados de disacáridos con armazón de alosa- α (1 \rightarrow 4)-glucosa y acetato como grupo anomérico saliente se muestran en la Figura 3.7

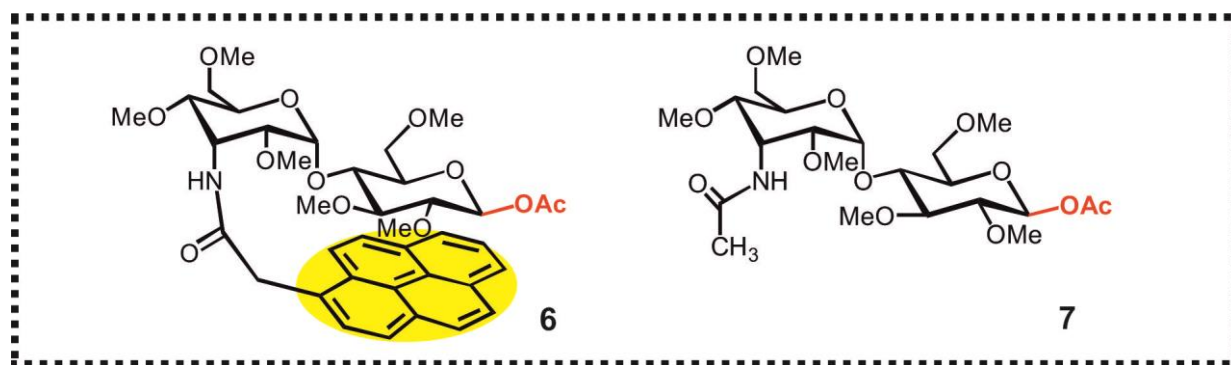
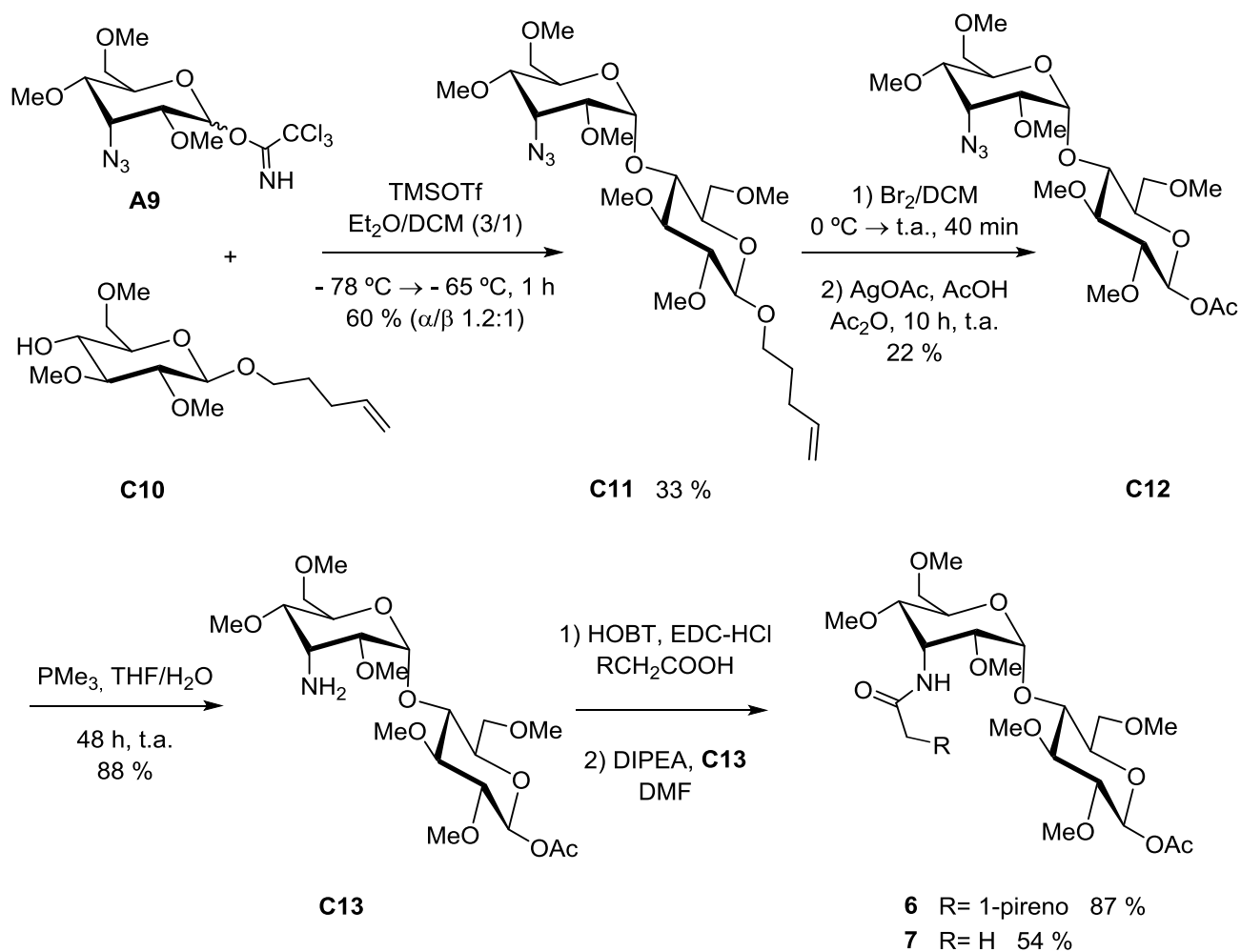


Figura 3.7.- Estructura de los disacáridos 6 y 7 sintetizados.

Para su preparación se empleó una estrategia sintética general (detallada en el esquema 3.22) idéntica a la utilizada para la síntesis de los sistemas modelos 1,2 con OAc en el extremo reductor (3 y 5).



Esquema 3.22.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los disacáridos (6 y 7).

De acuerdo con ella (Esquema 3.22), se llevó a cabo una reacción de glicosilación entre el donador **A9** y el aceptor de glicosilo **C10**, empleando una mezcla 3:1 Et₂O/DCM a baja temperatura. Dicha etapa rindió el derivado **C11** con un 33 %, y el correspondiente anómero β con un 27 % de rendimiento. A continuación, el grupo pentenilo en posición anomérica se intercambi6 por una funci6n acetato, por reacci6n del derivado **C11** con Br₂ en DCM anhidro a 0 °C, seguido de la adici6n del AgOAc. Seguidamente, llevamos a cabo una reducci6n de Staudinger sobre la amina **C12**, que por tratamiento con PMe₃ dio lugar al derivado **C13**. Sobre este realizamos las reacciones de acoplamiento con los 6cidos 1-pirenoac6tico o ac6tico. Ambos acoplamientos, fueron mediados por EDC y HOBT y dieron lugar a los derivados **6** y **7** con un 87 % y 54 % de rendimiento, respectivamente.

Síntesis de los sistemas modelo 8 y 9.

En la Figura 3.8 se muestran los dos disac6ridos sintetizados con un armaz6n com6n de alosa α (1 \rightarrow 3) glucosa (**8** y **9**) portadores de una funci6n acetato como grupo saliente en posici6n anomérica.

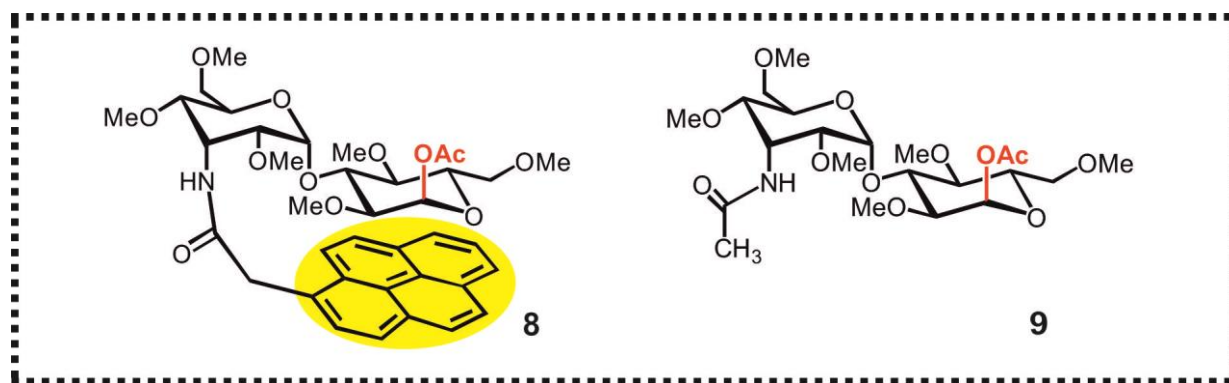
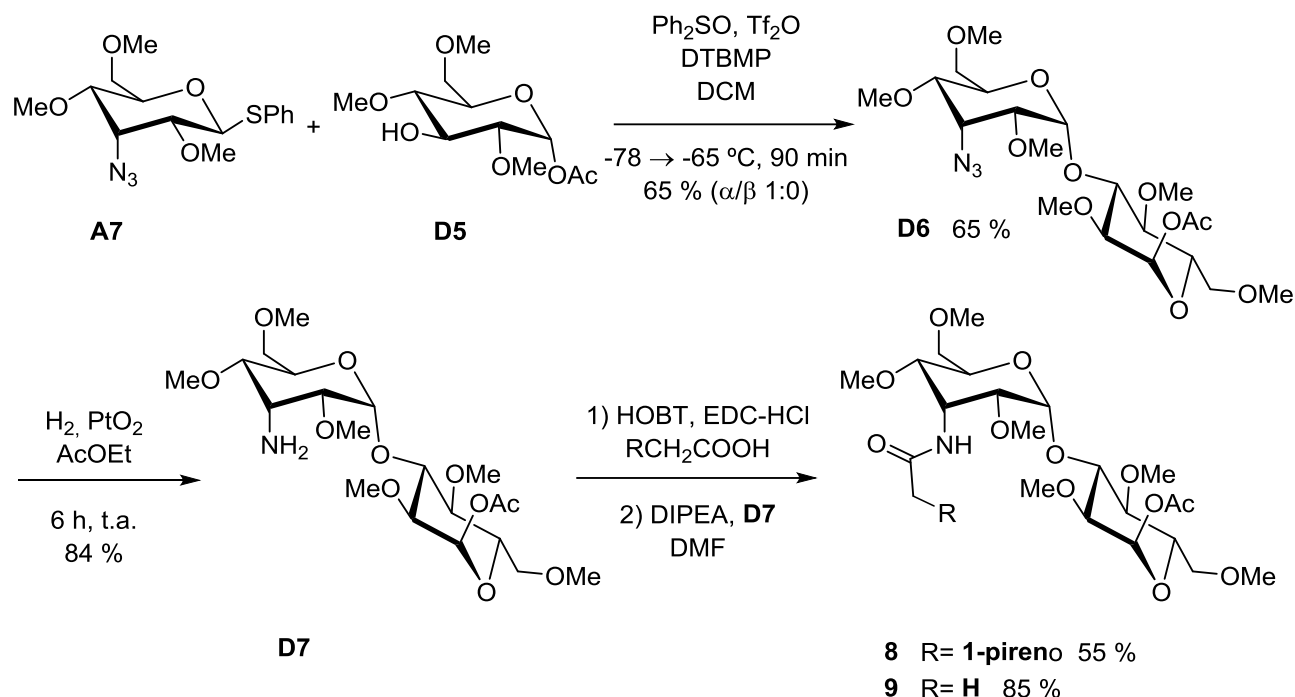


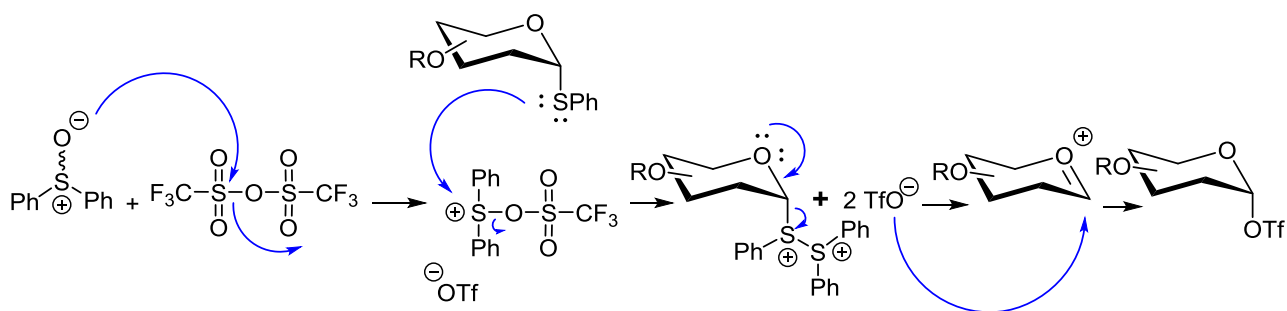
Figura 3.8.- Estructura de los disac6ridos 8 y 9 sintetizados.

La estrategia sint6tica empleada en la preparaci6n de los disac6ridos **8** y **9** se detalla en el Esquema 3.23. De acuerdo con esta, realizamos como primer paso una reacci6n de glicosilaci6n, empleando el donador de glicosilo **A7**, el aceptor **D5** y Ph₂SO y anhídrido trif6lico como promotores. Dicho procedimiento nos proporcion6 el disac6rido **D6** con la estereoquímica α deseada y un rendimiento del 65 %.



Esquema 3.23.- Estrategia sintética empleada para la preparación de los disacáridos **8 y **9**.**

El mecanismo general del protocolo de activación empleado en la obtención del disacárido **D6** se muestra en el Esquema 3.24. De acuerdo con este, el difenilsulfóxido ataca al anhídrido triflórico, generando un intermediario catiónico. A continuación, se produce un segundo ataque nucleófilo sobre esta especie que involucra al grupo tiofenilo anomérico y procede con liberación de un segundo anión triflato. Finalmente, tras la liberación del grupo saliente, se forma un glicosiloxocarbenio, que por último, es capturado por un grupo triflato. Se genera de esta forma un α - triflato de glicosilo altamente reactivo, cuyo acoplamiento con el OH aceptor (via $\text{S}_{\text{N}}2$ o $\text{S}_{\text{N}}1$) permite la formación del disacárido deseado.

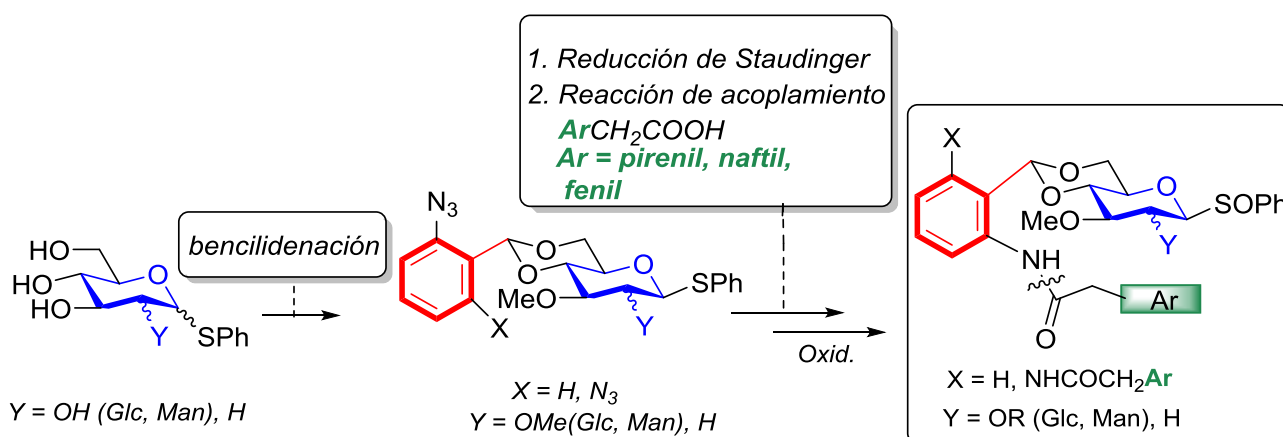


Esquema 3.24- Mecanismo aceptado para la activación de tioglicósidos con Ph_2SO y anhídrido triflórico.

Una vez obtenido el disacárido **D6**, se llevó a cabo la reducción de la función azida. Tal y como hemos hecho habitualmente en casos anteriores, se intentó, como primera opción, la reacción de Staudinger. Sin embargo, en esta ocasión no procedió de modo satisfactorio, debido probablemente a la imposibilidad de utilizar NaOH en la misma, por ser incompatible con la función acetato presente en la posición anomérica de la unidad de glucosa. Si bien es cierto que la reducción de Staudinger puede ser asistida por agua en vez de NaOH, en este caso concreto la presencia de la base parece esencial. Teniendo esto en cuenta, recurrimos a una reacción de hidrogenólisis convencional catalizada por PtO₂/C en acetato de etilo. Dicho protocolo nos proporcionó la amina libre con buen rendimiento. Por último, se acoplaron los ácidos 1-pirenoacético y acético de manera análoga a la anteriormente descrita para el resto de disacáridos, obteniéndose así los compuestos **8** y **9** con rendimientos del 55 % y 85 %, respectivamente.

3.2.2.- SÍNTESIS DE MODELOS TIPO II.

3.2.2.1.-Metodología general para la síntesis de los compuestos 10-19.



Esquema 3.25.- Estrategia general empleada en la síntesis de los compuestos 10-19.

La estrategia general seguida en la preparación de los modelos **10-19** se muestra en el esquema 3.25. De acuerdo con esta, se introduce un grupo bencilideno, convenientemente funcionalizado con una o dos funciones azida, sobre las posiciones 4 y 6 de un tioglicósido, fijando así la conformación de la piranosa en una silla ⁴C₁. Cabe mencionar que, con objeto de permitir un

posicionamiento adecuado de los sistemas aromáticos en los productos finales, las funciones azida deben posicionarse en orto con respecto a la función acetálica, lo cual limita su reactividad, especialmente en el caso de los sistemas orto-disustituídos.

Tras la *O*-metilación de las posiciones 2 y 3, se introducen los residuos aromáticos que van a participar en interacciones de *stacking* con el donador. Para ello se procede a la reducción de las azidas, realizando en segundo lugar reacciones de acoplamiento con ácidos carboxílicos que portan las diferentes plataformas aromáticas. Finalmente, la función tiofenilo anomérica es oxidada a sulfóxido. La selección de dicho grupo saliente se justifica por dos razones. Por un lado, permite la activación del donador en ausencia de ácidos próticos o de Lewis, siendo, por tanto, compatible con la presencia del grupo bencilideno. Por otro lado, si bien la activación directa del tiofenilo con difenil sulfóxido y anhídrido triflico constituye una alternativa en apariencia más sencilla, ensayos preliminares han demostrado la incompatibilidad de dichas condiciones de reacción con la presencia del grupo pireno.

3.2.2.2.- Síntesis de sistemas modelo derivados de manosa y glucosa (compuestos 10-15).

La estructura general de los modelos derivados de manosa (**10**, **12** y **13**) y glucosa (**11**, **14** y **15**) sintetizados se muestran en las Figuras 3.9 y 3.10, respectivamente.

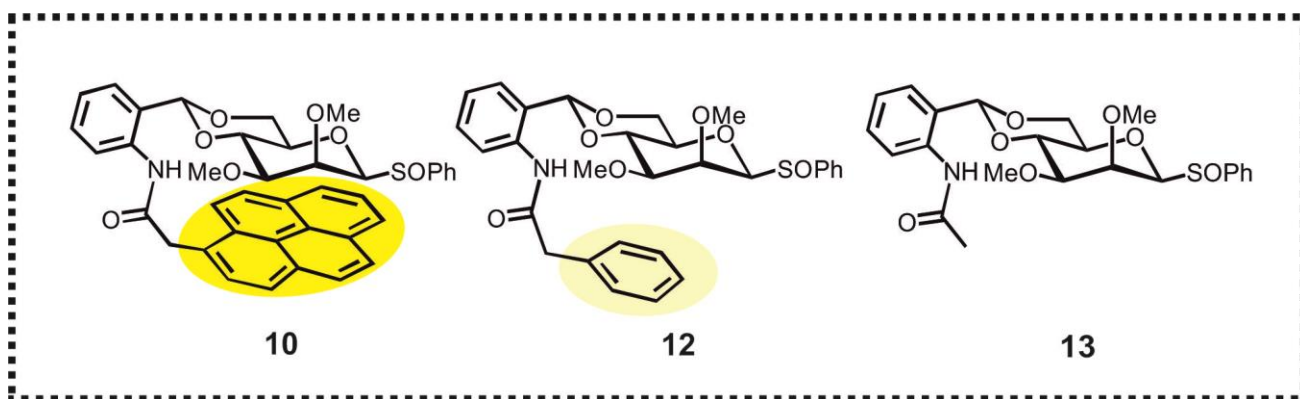


Figura 3.9.- Modelos (**10**, **12** y **13**) de derivados glicosilo-aromático de manosa con y sin *stacking*.

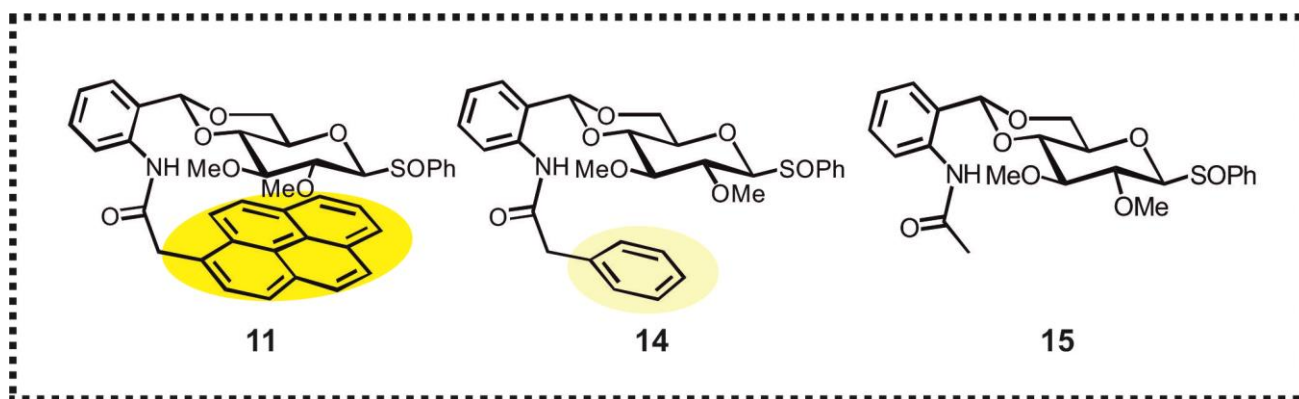
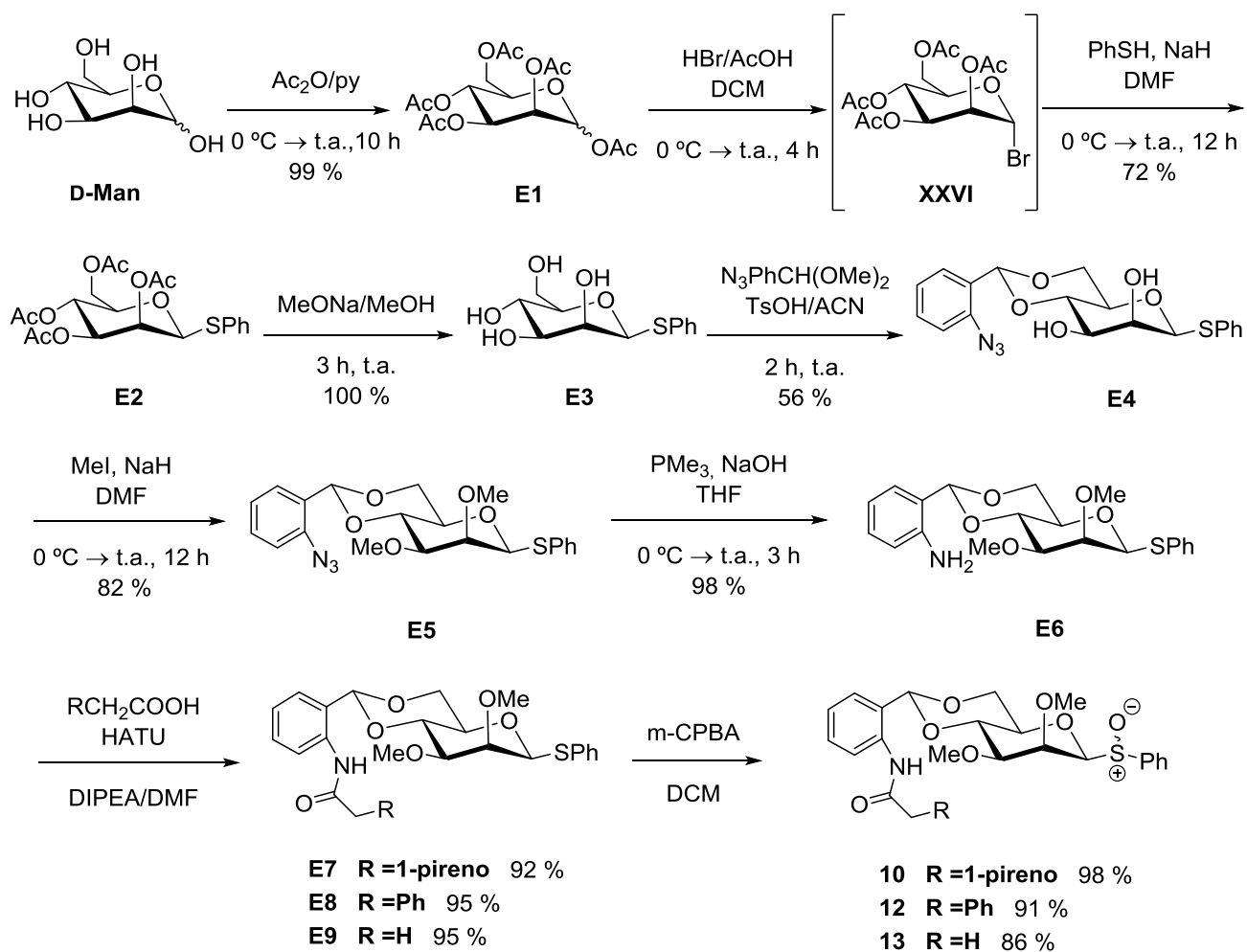
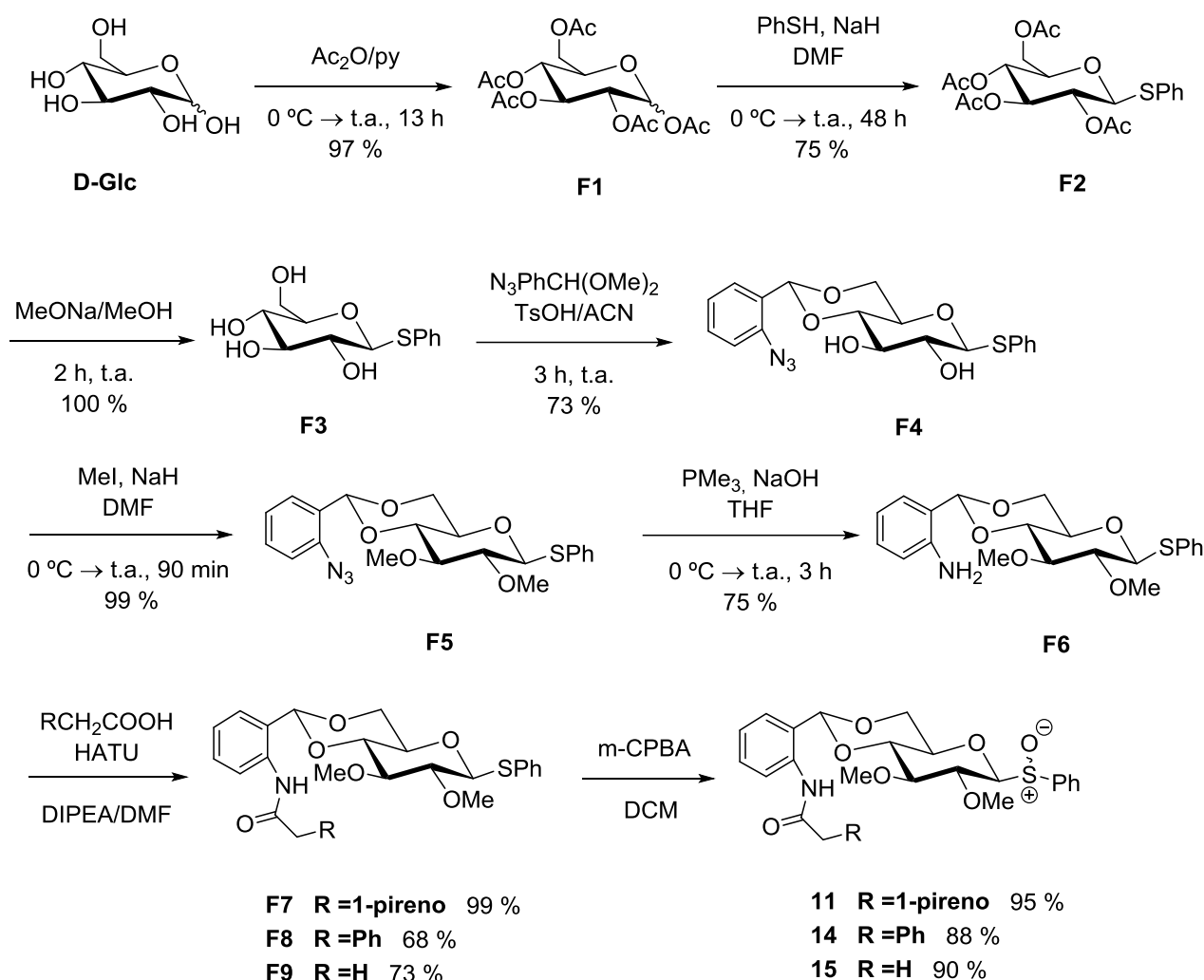


Figura 3.10.- Modelos (11, 14 y 15) de derivados glicosilo-aromático de glucosa con y sin stacking.

La ruta sintética diseñada para la preparación de estos sistemas se muestra en los Esquemas 3.26 y 3.27.



Esquema 3.26.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los derivados de manosa 10, 12 y 13.

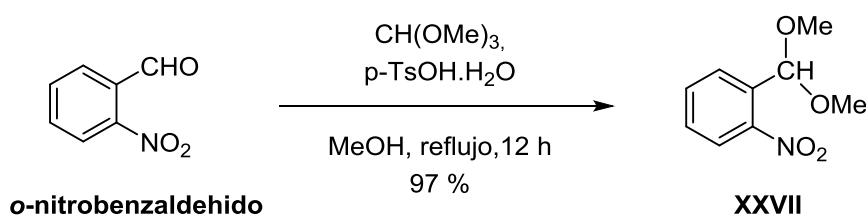


Esquema 3.27.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los derivados de glucosa **11, **14** y **15**.**

De acuerdo con los mismos partimos de D-manosa y D-glucosa comerciales. Como primer paso, se llevó a cabo la per-O-acetilación de ambos carbohidratos mediante tratamiento con anhidrido acético en piridina. La siguiente etapa consistió en la introducción de las funciones tiofenilo en posición anomérica con configuración β . En el caso de la glucosa, esto se consiguió utilizando las condiciones de reacción habitualmente empleadas y consistentes en un tratamiento con tiofenol y trifluoruro de boro-eterato en DCM. Sin embargo, la formación del compuesto con configuración anomérica β en el sustrato de manosa resultó más problemática. Por esta razón, en este caso fue necesaria la introducción de una etapa intermedia. El motivo de esto radica en la influencia

ejercida por el sustituyente en dos sobre la estereoselectividad de la reacción. Tal y como se mencionó anteriormente (apartado 1.2.3), los grupos participantes en posición 2 (como el OAc), tienden a dar de forma mayoritaria los glicósidos 1,2-trans. Por esta razón, el tratamiento directo de la glucosa peracetilada (**F1**) con tiofenol y trifluoruro de boro-eterato, permite acceder al derivado deseado (**F2**). Sin embargo, en el caso de la manosa, dicho procedimiento, no rendiría el anómero β , de forma mayoritaria sino el α . Teniendo esto en cuenta decidimos emplear, en este caso, una estrategia de doble inversión (ver esquema 3.26). Así, la manosa peracetilada (**E1**), fue tratada con ácido bromhídrico, lo que permitió acceder al derivado bromado **XXVI** con configuración α . A continuación, realizamos una sustitución nucleófila bimolecular sobre la posición anomérica por tratamiento con tiofenol e hidruro sódico en DMF a 0 °C, para obtener el tioglicósido β (**E2**) con un rendimiento del 72 %. Una vez obtenidos los β -tioglicósidos de manosa y glucosa (**E2** y **F2**), se procedió a la eliminación de los grupos acetato en las condiciones habituales de reacción, por tratamiento con cantidades catalíticas de metóxido sódico en metanol.

La siguiente etapa de reacción consistió en la introducción del grupo bencilideno en posiciones 4 y 6 de las unidades de piranosa y dio lugar a los derivados (**E4** y **F4**). De acuerdo con la estrategia general de síntesis planteada, dicho grupo debe estar sustituido en posición orto con una funcionalidad a partir de la cual pueda, de un modo sencillo, generarse un grupo amino. A pesar de que finalmente nos decantamos por un grupo azido (en parte por analogía con los procedimientos empleados en la síntesis de los disacáridos **1-9**), nuestra primera elección fue un grupo nitro. Dado que el reactivo requerido para este paso no es comercial, fue necesaria su preparación. Para ello partimos de *o*-nitrobenzaldehído cuyo tratamiento con ortoformiato de metilo catalizado con ácido *p*-toluensulfónico en metanol a reflujo,¹⁰⁶ permitió acceder al dimetil acetal correspondiente (**XXVII**) de forma cuantitativa (Esquema 3.28).

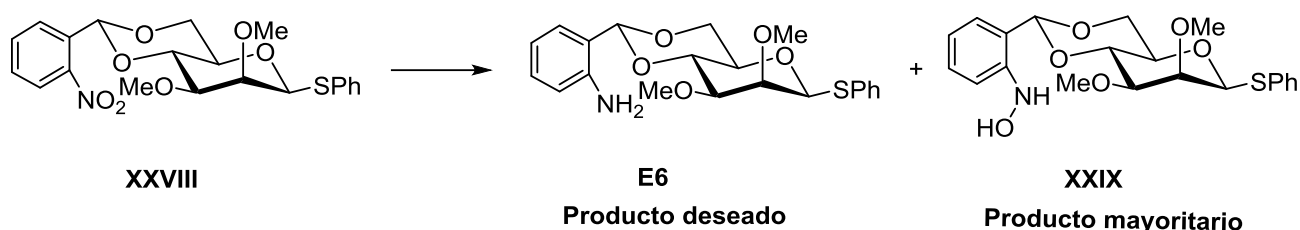


Esquema 3.28.- Formación del derivado **XXVII** a partir de *o*-nitrobenzaldehído.

Los ensayos subsiguientes orientados a la introducción de la función bencilideno, así como los pasos posteriores, se realizaron, de modo exclusivo, con el derivado de manosa **E3**. Una vez realizada con éxito la reacción de bencilidenación y posterior metilación de los hidroxilos libres, se procedió, a la obtención de la función amina a partir del grupo nitro. Si bien uno de los métodos más habituales empleados con este fin es por tratamiento con zinc o hierro metálico en medio ácido, este quedó descartado al resultar incompatible con la función bencilideno (inestable en medio ácido). Por este motivo, se intentaron diversos métodos alternativos. Estos se resumen en los siguientes epígrafes:

- Hidrogenólisis con Pd/C como catalizador, en acetato de etilo y medio básico. Como bases se usaron primeramente DIPEA, y en un segundo intento Et₃N.
- Reducción con ditionito sódico y carbonato potásico en mezclas EtOH/agua 9:1.¹⁰⁷
- Reacción con sulfuro de sodio nona-hidrato en una mezcla de EtOH/H₂O 9:1.¹⁰⁸

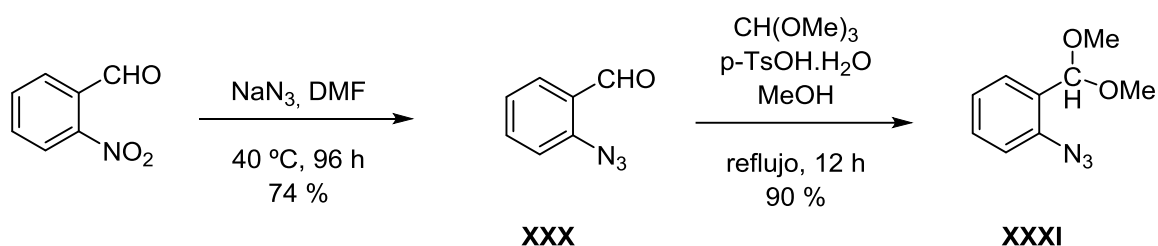
Desafortunadamente, todos ellos rendían como producto mayoritario un derivado de hidroxilamina (**XXIX**), como consecuencia de una reducción intermedia del grupo nitro, en vez de la anilina deseada, con independencia de las condiciones empleadas a tal efecto.



Esquema 3.29.- Intento de reducción del grupo NO₂ en el derivado de manosa **XXVIII**.

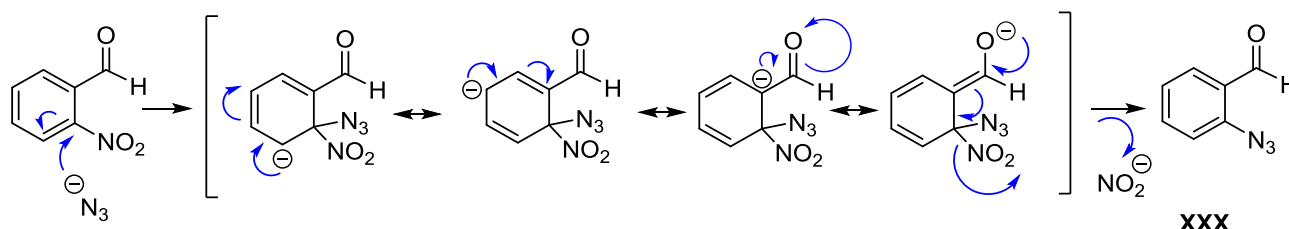
A pesar del esfuerzo sintético realizado, en ningún caso se logró la amina deseada de forma predominante. Por este motivo, fue necesario valorar una estrategia alternativa basada en la sustitución del grupo nitro por una azida. Así, decidimos partir de *o*-nitrobenzaldehído comercial, el cual, por tratamiento con

azida sódica en DMF, rindió el *o*-azidobenzaldehído **XXX** con un 74 % de rendimiento (esquema 3.30).



Esquema 3.30.- Formación del derivado aromático (**XXXI**) empleado en la reacción de bencilidenación.

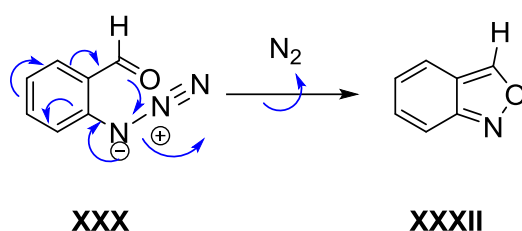
Dicha reacción implica una sustitución nucleófila aromática (S_NAr), facilitada por la presencia de un grupo aldehído electroattractor en posición orto con respecto al nitro. El mecanismo de dicho proceso se detalla en el Esquema 3.31. De acuerdo con este, el grupo azida actúa como nucleófilo, atacando a la posición 2 del anillo aromático. El intermedio resultante está estabilizado debido a la existencia de numerosas formas resonantes que permiten la deslocalización de la carga negativa, e involucran también el carbono carbonílico. Finalmente, el grupo nitrito es expulsado con recuperación de la aromaticidad.



Esquema 3.31.- Mecanismo de la reacción de sustitución nucleófila aromática (S_NAr) de la azida por el grupo nitro en orto a la función aldehído.

En la bibliografía¹⁰⁹ se describe la obtención, con un 100 % de rendimiento, del derivado *o*-azidobenzaldehído **XXX** por reacción de *o*-nitrobenzaldehído comercial con azida sódica en HMPA a temperatura ambiente. Sin embargo, debido a la alta toxicidad y poder carcinogénico del HMPA, nos pareció conveniente explorar esta misma reacción con un disolvente alternativo que fuese igualmente polar y aprótico, como la DMF¹¹⁰. A pesar de que en este disolvente no se obtiene el compuesto deseado con un rendimiento excelente (74 % vs 100 %), y la reacción se ralentiza considerablemente (4 días a 40 °C vs 8 h a

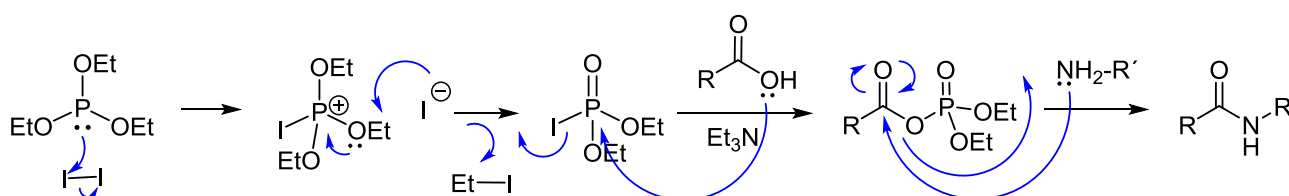
temperatura ambiente), optamos por seguir adelante con esta opción, ya que la dimetilformamida es menos tóxica y más fácilmente manipulable. Por otro lado, es preciso considerar que si la temperatura de reacción no excede de 40-50 °C, se recupera una fracción significativa de producto de partida, susceptible de ser reutilizado. Por el contrario, si se superan los 60 °C, se provoca una reacción secundaria de ciclación térmica acompañada de extrusión de nitrógeno molecular, lo que genera como subproducto el isoxazol **XXXII** mostrado en el Esquema 3.32. Dicho proceso determina una disminución drástica en el rendimiento.



Esquema 3.32.- Mecanismo empleado para explicar la formación del isoxazol **XXXII** como producto secundario formado a partir de *o*-azidobenzaldehído **XXX**.

En un segundo paso, la reacción con ortoformiato de metilo en metanol, permitió acceder al dimetilacetal **XXXI** con un 90 % de rendimiento.¹¹¹ Una vez obtenido dicho derivado, los sistemas desprotegidos de manosa y glucosa (**E3** y **F3**) fueron sometidos a una reacción de bencilidenación por tratamiento de los mismos con el reactivo descrito anteriormente (**XXXI**), en presencia de ácido *p*-toluensulfónico anhidro en ACN. A continuación, se protegieron las funciones hidroxilo libres en forma de metiléter por reacción con yoduro de metilo e hidruro sódico, lo que condujo a los compuestos **E5** y **F5** con buen rendimiento. Finalmente, se redujeron las correspondientes azidas mediante una reacción de Staudinger con PMe₃ en medio básico. Las aminas resultantes (**E6** y **F6**) se acoplaron a los diversos ácidos requeridos para la preparación de los modelos finales, mediante una reacción promovida por HATU. En este punto es preciso comentar el motivo del cambio de agente de acoplamiento con respecto al empleado anteriormente para la formación de las amidas en la síntesis de los disacáridos modelo (compuestos **1-9**) previamente descritas (sección 3.2.1.4). Los intentos de emular las condiciones de acoplamiento empleadas para dichos sistemas resultaron infructuosos. Se observó que en los derivados de manosa y glucosa (**E6** y **F6**) la reacción con los diferentes ácidos promovida por EDC, no tenía lugar en las mismas condiciones de temperatura, por lo que, nos pareció

conveniente aumentar la misma. A pesar de ello, los derivados de partida fueron recuperados sin haber sufrido transformación alguna. Esta falta de reactividad, incluso a temperaturas elevadas, nos llevó a plantear un cambio en el agente de acoplamiento. Con el derivado de manosa **E6** se ensayó un método alternativo descrito en la bibliografía.¹¹² Para ello se trató con ácido fenilacético, I_2 y trietilfosfito en medio básico empleando DCM anhidro como disolvente.



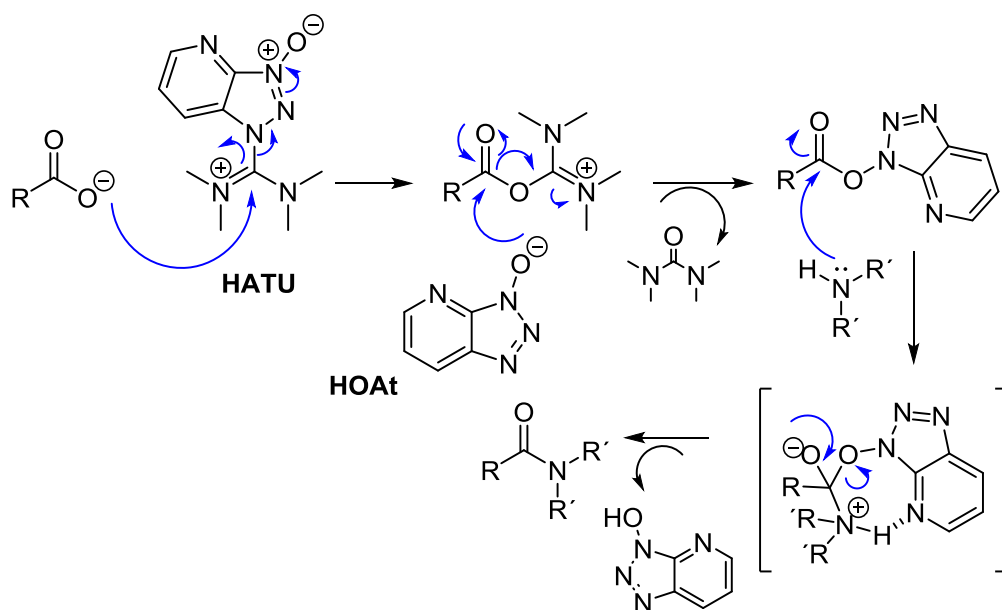
Esquema 3.33.- Mecanismo comúnmente aceptado la reacción de acoplamiento promovida por trietilfosfito en medio básico.

El mecanismo comúnmente aceptado para esta reacción se muestra en el esquema 3.33. Cuando se usa como agente de acoplamiento trietilfosfito en medio básico, se forma una especie activada de fósforo, la cual es atacada por con el ácido carboxílico desprotonado. Esta primera etapa, genera un anhídrido mixto intermedio, el cual, tras la adición de la amina, sufre un ataque nucleófilo con expulsión del grupo saliente $(POEt)_2O^-$, generándose la amida deseada.

Desafortunadamente, el empleo de este agente de acoplamiento tampoco permitió acceder al compuesto deseado. Por ello, fue preciso plantear una tercera vía. El tercer agente de acoplamiento explorado fue HATU. El acoplamiento mediado por HATU presenta un mecanismo (Esquema 3.34) similar al que se produce cuando se usa EDC y HOBT (ver Esquema 3.20). Sin embargo, en el caso del primero, se generan desde el primer paso de reacción, especies altamente reactivas, lo que permite la formación de la amida de forma más eficiente.

El proceso transcurre en tres etapas. En la primera, el anión carboxilato (generado por la presencia de DIPEA), ataca al HATU formando una sal inestable de uronio y HOAt desprotonado. A continuación, el HOAt ataca al carbono carbonílico de dicha sal. Esta reacción está facilitada termodinámicamente por la formación de una urea muy estable. Finalmente, se produce el ataque nucleófilo de la amina al carbono carbonílico del éster activado, lo que provoca la formación de un intermedio altamente inestable, que evoluciona para dar la correspondiente amida. Se cree que las rápidas velocidades de reacción y

mayores eficacias de acoplamiento asociadas al agente de acoplamiento HATU frente a otros como la EDC, se deben, en parte, a la ayuda anquimérica ejercida por el nitrógeno pirídínico, que estabiliza la entrada de la amina por medio de un enlace de hidrógeno en un estado de transición cíclico de 7 miembros (Esquema 3.34).¹¹³



Esquema 3.34.- Mecanismo comúnmente aceptado para la reacción de acoplamiento de ácidos y aminas promovida por HATU como agente de acoplamiento en medio básico.

Debido a la baja reactividad del grupo amino presente en los derivados de manosa y glucosa (**E6** y **F6**), incluso empleando esta metodología, el rendimiento no supera el 20 % cuando la reacción se hace a temperatura ambiente. Tratamos, por ello de optimizar las condiciones, conduciendo al proceso a mayor temperatura, pero tampoco esto supuso una mejora sustancial. Por ello, finalmente decidimos llevar a cabo las reacciones en un reactor microondas. Esto nos permitió acceder a los derivados **E7-E9** y **F7-F9** con buenos rendimientos. Partiendo de los mismos, las funciones tiofenilo fueron oxidadas a sulfóxidos por reacción con ácido *m*-cloroperbenzoico a baja temperatura, lo que permitió obtener los compuestos finales **10-15** con buenos rendimientos. En este último paso de reacción, es preciso tener especial precaución con la proporción del reactivo oxidante (no superar 1.1 equivalentes), y mantener una baja temperatura para evitar la sobreoxidación de los sulfóxidos a las correspondientes sulfonas. Además, resulta imprescindible detener la reacción a baja temperatura con $Na_2S_2O_3$ y eliminar los disolventes en ausencia de calor.

Destacar que, a partir de cada β -tioderivado se obtuvieron mezclas de dos sulfóxidos en diferentes proporciones (denominados, según el orden de elución, como sulfóxidos 1 y 2).

Finalmente, cabe mencionar que los derivados **10-15** de manosa y glucosa fueron adicionalmente sintetizados con marcaje isotópico en ^{13}C . En el caso de la manosa se empleó como producto de partida manosa comercial etiquetada isotópicamente de forma exclusiva en posición anomérica. En el caso de la glucosa, resultó más conveniente desde el punto de vista económico emplear como material de partida glucosa comercial etiquetada en todas sus posiciones. La metodología sintética utilizada en la preparación de dichos productos es enteramente análoga a la anteriormente detallada (y recogida en los Esquemas 3.26 y 3.27). Como es lógico, con objeto de limitar el coste de la misma hubo que extremar las precauciones, tanto en las reacciones como en los diversos pasos de purificación. Dicha estrategia sintética nos permitió acceder a los productos deseados en cantidades suficientes para nuestros estudios.

3.2.2.3.- Síntesis de derivados de 2-desoxiglucosa 16 y 17.

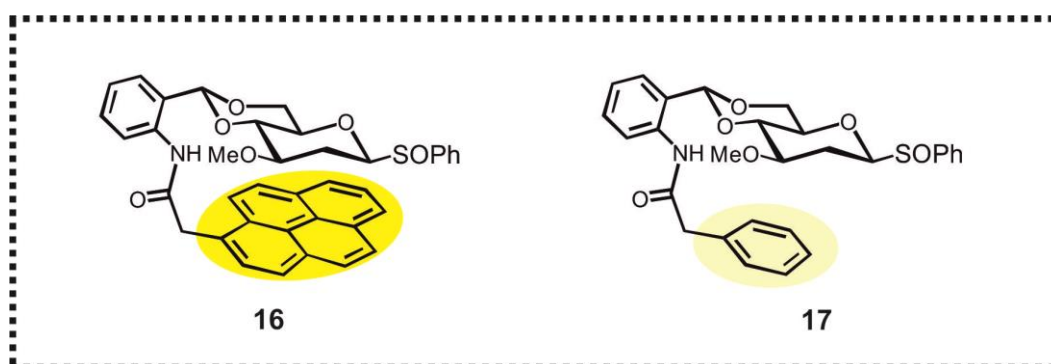
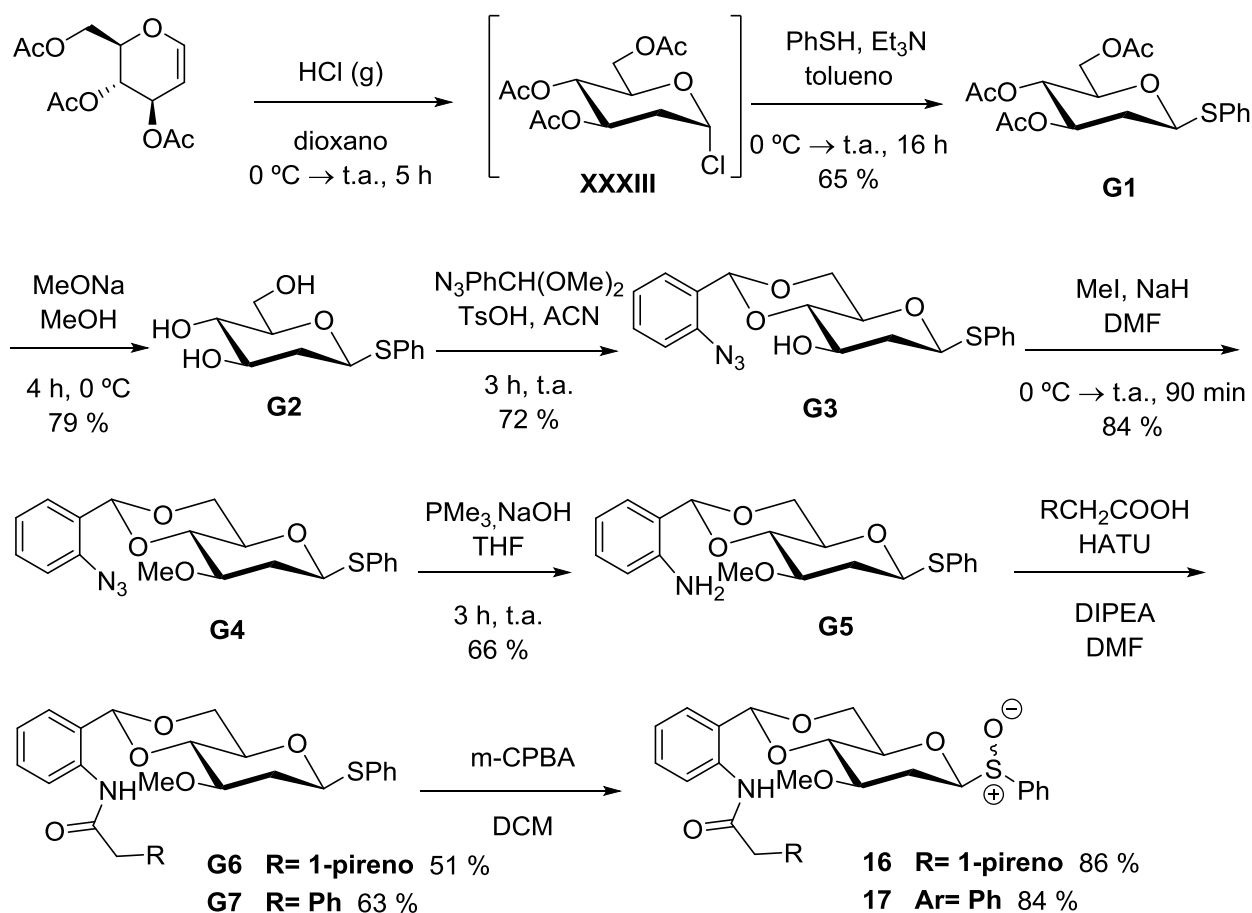


Figura 3.11.- Representación de los modelos derivados de 2-desoxiglucosa 16 y 17.

En la Figura 3.11 se muestran los dos modelos diseñados que incorporan unidades de 2-desoxiglucosa. La ruta sintética diseñada para su preparación se representa en el Esquema 3.35.

La metodología empleada en la síntesis del compuesto **G1** ha sido previamente descrita en la bibliografía por Sugimura.¹¹⁴ Siguiendo este procedimiento se partió de tri-*O*-acetil-D-glucal comercial, el cual, por reacción

con HCl/dioxano (4M) y posterior tratamiento con tiofenol y trietilamina en tolueno condujo a dicho derivado con un 20 % de rendimiento.



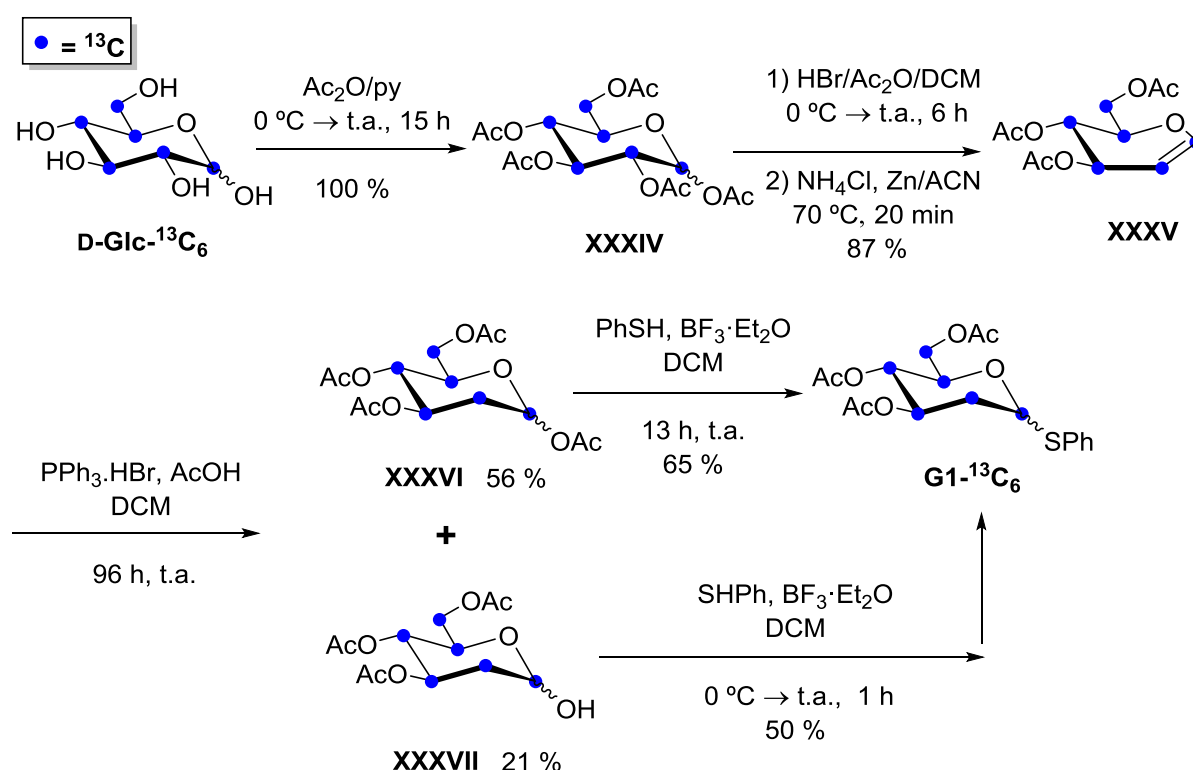
Esquema 3.35.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los derivados de 2-desoxiglucosa **16 y **17**.**

Una vez obtenido el derivado **G1**, las posiciones acetiladas fueron desprotegidas, mediante el procedimiento habitual, por reacción con metóxido sódico en metanol. En este caso, fue necesario tener especial precaución con la cantidad de sodio empleada en la generación del metóxido y con el tiempo de reacción, ya que la 2-desoxiglucosa es muy reactiva y el grupo tiofenilo podría ser desplazado por una función OMe. Posteriormente, las posiciones 4 y 6 fueron protegidas con 1-azido-2-(dimetoximetil)benzeno (derivado **XXXI**) en las mismas condiciones ya descritas en el apartado anterior (3.2.2.2) para la síntesis del compuesto **G3**. A continuación, el hidroxilo libre se protegió en forma de metiléter y la azida se redujo, mediante una reacción de Staudinger con trimetilfosfina en medio básico para rendir el derivado **G5** con un 66 % de

rendimiento. Como siguiente paso, llevamos a cabo las reacciones de acoplamiento de los ácidos 1-pirenoacético o del ácido fenilacético al grupo amino promovidas por HATU en un reactor microondas a 60 °C. Finalmente, los tioglicósidos **G6** y **G7** resultantes fueron oxidados a baja temperatura por reacción con ácido m-cloroperbenzoico para dar lugar a los modelos **16** y **17** con rendimientos del 86 % y 84 % respectivamente.

Síntesis de derivados de 2-desoxiglucosa marcados isotópicamente (**16-¹³C₆** y **17-¹³C₆**)

Los mismos derivados descritos en la Figura 3.11 fueron sintetizados con todas las posiciones del azúcar marcadas isotópicamente en ¹³C. Para ello, nos vimos obligados a proponer un esquema sintético alternativo (Esquema 3.36) ya que el glucal marcado en ¹³C, originalmente empleado como producto de partida, no es comercial. Por otro lado, el bajo rendimiento obtenido en la primera etapa sintética de la ruta original, la haría inviable desde un punto de vista económico, debido al elevado coste de los compuestos marcados.



Esquema 3.36.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los derivados de 2-desoxiglucosa marcados isotópicamente. Modelos (**16-¹³C₆** y **17-¹³C₆**).

Decidimos, por tanto, partir de glucosa comercial con todas sus posiciones marcadas en ^{13}C . Como primer paso, la $^{13}\text{C}_6$ -D-glucosa fue peracetilada empleando el procedimiento habitual. El tratamiento con ácido bromhídrico y DCM, seguido de zinc y cloruro amónico en ACN anhidro rindió el glucal correspondiente (**XXXV**) con un 87 % de rendimiento. Posteriormente, llevamos a cabo una reacción de adición electrófila al doble enlace del glucal empleando trifenilfosfina hidrobromuro ($\text{PPh}_3\cdot\text{HBr}$) y ácido acético en DCM anhidro para obtener el derivado **XXXVI** deseado (con un 56 % de rendimiento), acompañado por una cierta cantidad del correspondiente producto de hidrólisis (**XXXVII**). Ambos productos fueron tratados en idénticas condiciones con con tiofenol y trifluoruro de boroeterato en DCM anhidro para obtener el tioglicósido **G1- $^{13}\text{C}_6$** . Las sucesivas etapas de reacción son análogas a las ya descritas en el apartado anterior (ver Esquema 3.35) para los derivados de 2-desoxiglucosa sin marcar. Empleando esta estrategia sintética se obtuvieron los compuestos **16- $^{13}\text{C}_6$** y **17- $^{13}\text{C}_6$** con un rendimiento del 66 % y 75 % respectivamente.

3.2.2.4.- Síntesis de derivados de 2-desoxiglucosa “tipo sandwich” **18** y **19**.

La estructura química de los sistemas modelo **18** y **19** se muestra en la Figura 3.12.

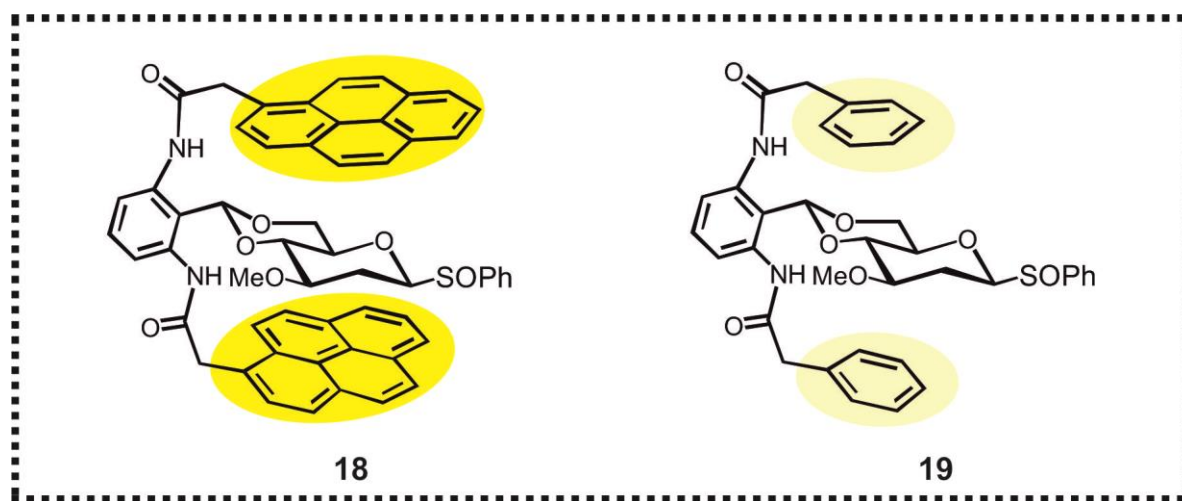
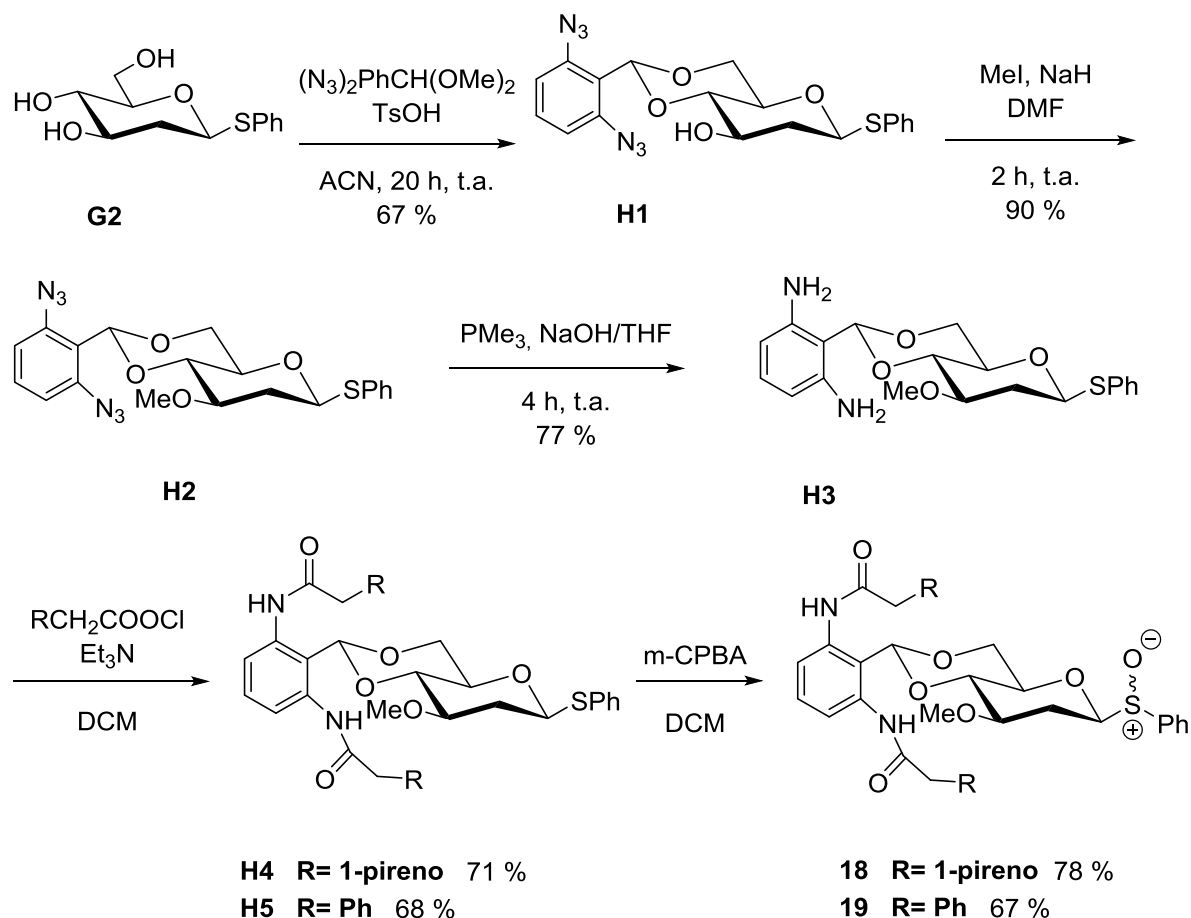


Figura 3.12.- Estructura química de los sistemas modelo **18 y **19** sintetizados.**

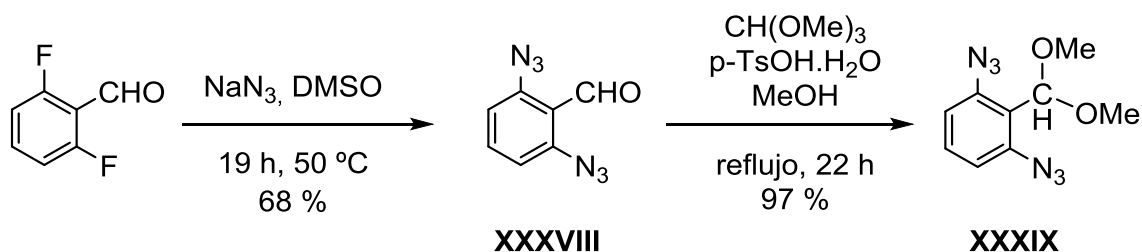
La metodología empleada en los derivados “tipo sandwich” de 2-desoxiglucosa se muestra en el Esquema 3.37.



Esquema 3.37.- Estrategia sintética empleada en la síntesis de los derivados **18 y **19**.**

El compuesto **G2** fue preparado tal y como se describe en el Esquema 3.35. A continuación, llevamos a cabo la introducción de un grupo bencilideno sobre las posiciones 4 y 6 de la piranosa. Para dicha reacción, se requirió la síntesis de un reactivo análogo al 1-azido-2-(dimetoximetil) benzeno (derivado **XXXI**), cuya síntesis se describe en el apartado 3.2.2.2. Sin embargo, en este caso, se requiere que el anillo aromático presente dos puntos de anclaje para su posterior acoplamiento con los diversos ácidos carboxílicos. En un primer momento, se contempló la posibilidad de emplear una idéntica ruta sintética a la seguida en la preparación del 1-azido-2-(dimetoximetil)benzeno (compuesto **XXXI**) que se describe en el Esquema 3.30. Sin embargo el elevado coste del 2,6-dinitrobenzaldehído de partida nos llevó a explorar otras rutas alternativas. Así, nos decantamos por partir de 2,6-difluorobenzaldehído, el cual, por tratamiento con azida sódica en DMSO a 50 °C durante 19 horas, condujo al 2,6-diazidobenzaldehído **XXXVIII** con un 68 % de rendimiento.¹¹⁵ A continuación, la

reacción de este con ortoformiato de metilo y ácido *p*-toluensulfónico en metanol a reflujo, permitió obtener, tras 22 horas de reacción, el 1,3-diazido-2-(dimetoximetil)benceno (derivado **XXXIX**) con un 97 % de rendimiento. (Esquema 3.38).



Esquema 3.38.- Síntesis del derivado aromático **XXXIX disustituido, empleado para la preparación del intermedio **H1**.**

Una vez sintetizado el derivado aromático **XXXIX**, se hizo reaccionar con el compuesto **G2** y ácido *p*-toluensulfónico en ACN anhidro, para dar el compuesto **H1** a con un 67 % de rendimiento. Posteriormente, se protegió el hidroxilo libre en forma de metiléter por tratamiento con yoduro de metilo e hidruro sódico en THF anhidro. A continuación, se procedió a la reducción de las azidas empleando condiciones de Staudinger. Como siguiente paso, llevamos a cabo los acoplamientos de los ácidos 1-pirenoacético y fenilacético, empleando la metodología descrita en el apartado 3.2.2.2, esto es, con HATU como agente de acoplamiento y un reactor microondas como fuente de calefacción. Sin embargo, en este caso, se obtuvieron bajos rendimientos, inferiores al 40 %. La falta de reactividad observada nos llevó a explorar un método alternativo de acoplamiento. Para ello, se prepararon, a partir de los ácidos carboxílicos comerciales, los cloruros de ácido correspondientes. La síntesis de los mismos se llevó a cabo por reacción de los ácidos con cloruro de tionilo en DCM anhidro y una gota de DMF, a temperatura ambiente durante 18 h. Teniendo en cuenta su baja estabilidad, dichos derivados fueron usados en las reacciones de acoplamiento sin purificación previa. Estas se llevaron a cabo en DCM anhidro, en presencia de trietilamina (Et_3N). De este modo se obtuvieron los compuestos **H4** y **H5** con rendimientos del 71 % y el 68 %, respectivamente. Por último, se procedió a la oxidación de los grupos tiofenilo por tratamiento con ácido *m*-cloroperbenzoico en DCM anhidro a baja temperatura, lo que condujo a los derivados **18** y **19** con rendimientos del 78 % y 67 % respectivamente.

3.3.- ESTUDIOS DE REACTIVIDAD.

3.3.1.- REACTIVIDAD DE LOS MODELOS TIPO I EN REACCIONES DE METANÓLISIS.

Los ensayos de metanólisis con los compuestos **1-9** se realizaron en tubos de RMN a temperaturas comprendidas en el rango 5-25 °C, dependiendo del modelo. Por lo que respecta al derivado **1**, los espectros de RMN confirmaron que, incluso en cloroformo, existe un apilamiento significativo entre la unidad de pireno y la cara α de la galactosa reactiva (Figura 3.13). Así, puede apreciarse como las señales correspondientes a los protones H1, H3 y H5 de piranosa, involucrados en interacciones CH/ π con el anillo aromático, aparecen fuertemente desplazadas a campo alto, con apantallamientos inducidos próximos, en algún caso a las 3 ppm ($\Delta\delta=-3$ ppm).

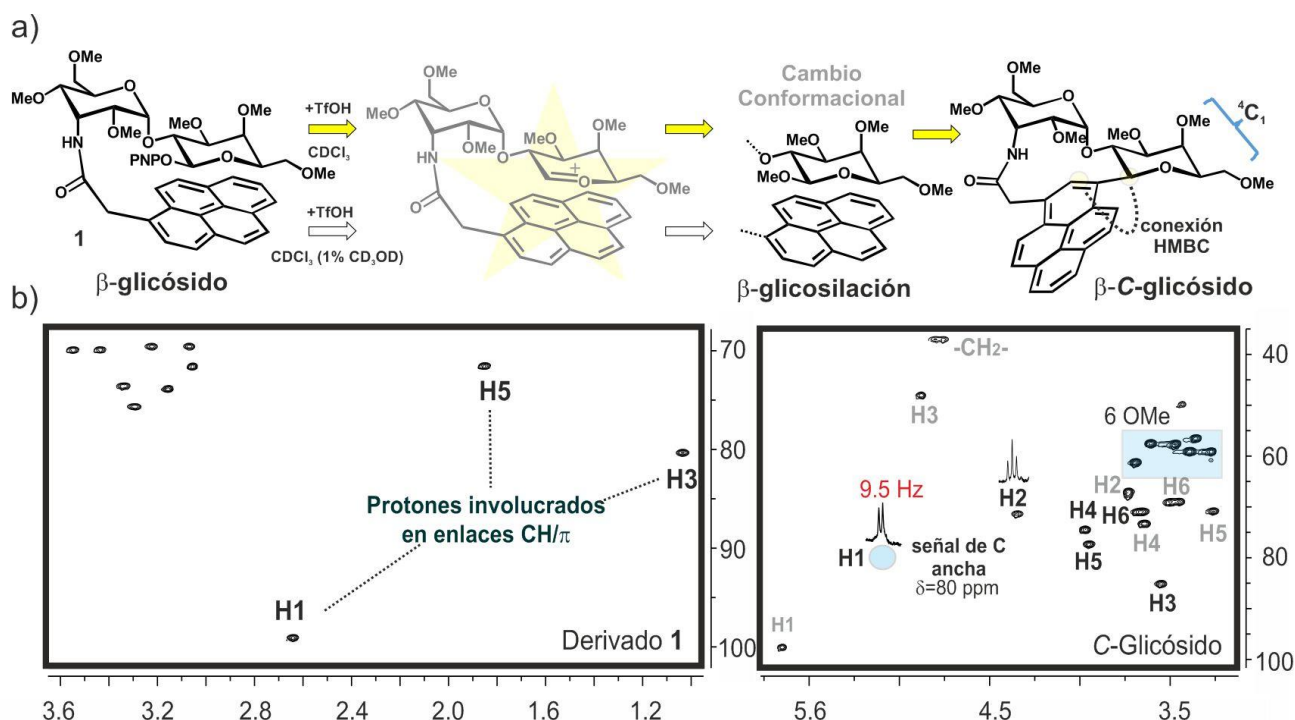


Figura 3.13.- Modelos tipo I. a) Evolución química del compuesto **1** tras su tratamiento con ácido triflico, tanto en ausencia como en presencia de 1 % de CD_3OD . b) Región clave de los espectros de RMN de HSQC registrados para **1**, junto con la estructura propuesta para el C-glicósido generado en ausencia de aceptor (ver texto principal).

Los primeros ensayos de activación se realizaron en ausencia de alcohol aceptor. Curiosamente, en estas circunstancias, la adición de ácido triflico (1 μL), se tradujo en un ensanchamiento extremo y generalizado de las señales de

protón, consistente con la presencia de diversas especies en intercambio intermedio en la escala de desplazamiento químico. La adición, en un segundo paso, de metanol deuterado (1 %) conduce a la formación de una especie mayoritaria sin apilamiento carbohidrato/aromático, tal y como atestiguan sus desplazamientos químicos (Figura 3.13). Desafortunadamente, todos los intentos de aislamiento realizados resultaron infructuosos debido a la baja estabilidad del derivado. A pesar de ello, los datos experimentales obtenidos (masas y espectros 1D y 2D-HSQC, NOESY, TOCSY y HMBC) apuntan a la estructura C-glicosídica, altamente tensionada, que se muestra en la figura 3.13a. Así, la señal de ^{13}C -correspondiente a la posición anomérica de la unidad de galactosa, aparece fuertemente ensanchada y con un desplazamiento químico de 80 ppm (propio de C-glicósidos). Dicha posición presenta, adicionalmente conexiones tanto NOE como HMBC con la unidad de pireno (Figura 3.14).

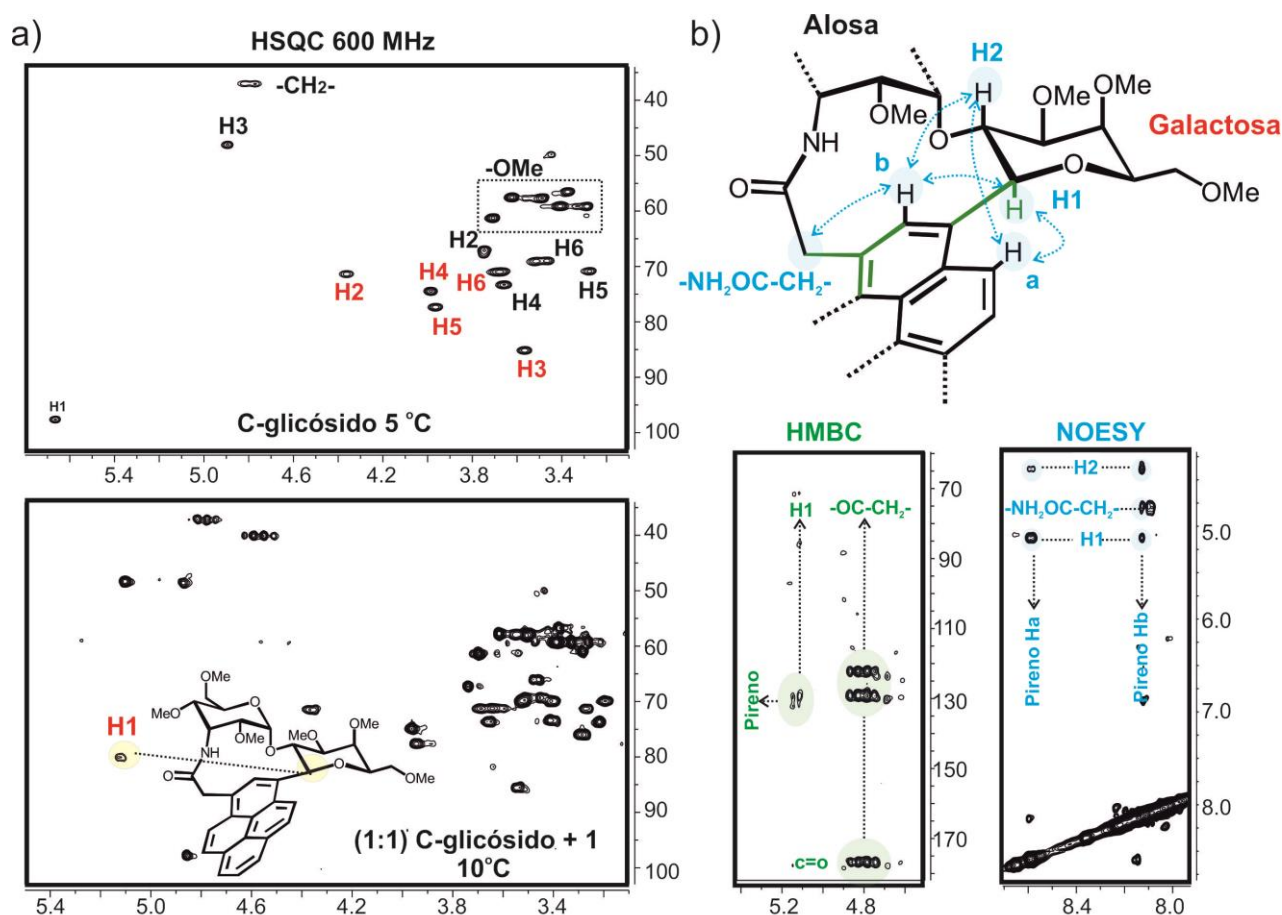


Figura 3.14.- a) Espectros HSQC obtenidos con dos crudos de reacción a diferentes temperaturas. En el espectro de abajo la especie C-glicosídica, cuya señal anomérica se destaca, coexiste con el producto de partida. b) Conexiones HMBC y NOE empleados para confirmar la estructura del C-glicósido generado en ausencia de aceptor.

Curiosamente, su configuración es β , en lugar de la α esperada en base a la geometría del complejo carbohidrato/aromático inicial, lo que sugiere que la formación de glicosil catión intermedio debe ir acompañada de un cambio conformacional significativo del sistema. Finalmente, las constantes de acoplamiento vecinales $^3J_{\text{HH}}$ medidas para las unidades de alosa y galactosa son consistentes con una conformación 4C_1 para ambas unidades.

Por el contrario, la activación de la unidad de galactosa en presencia de 1 % metanol deuterado conduce a un proceso lento de metanólisis fácilmente monitorizable mediante experimentos HSQC.

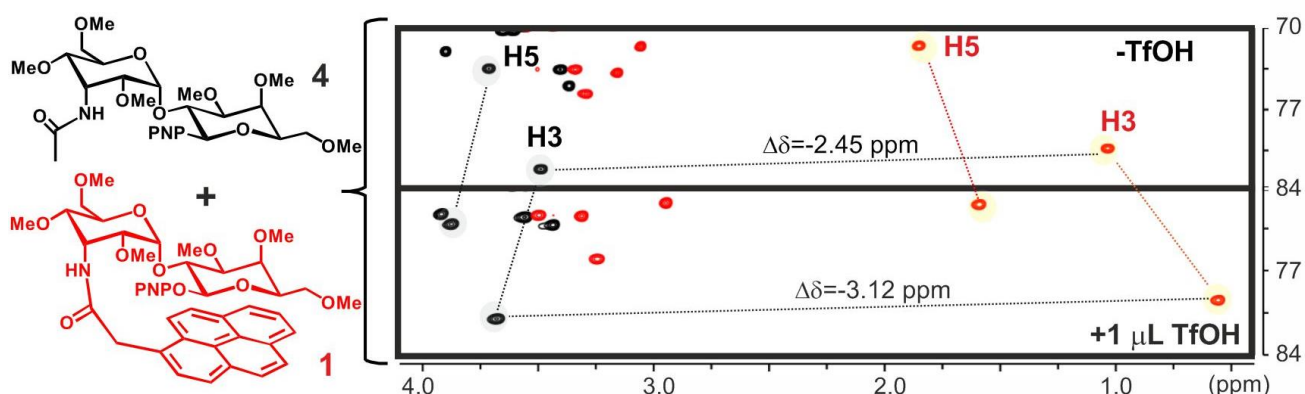


Figura 3.15.- Espectros HSQC adquiridos para una mezcla del compuesto **1** (rojo) y del compuesto **4** (negro) antes y después de la adición de ácido trifluoroacético. Se indican los valores de las perturbaciones de desplazamiento químico ($\Delta\delta$ (ppm)) promovidas por la unidad de pireno, para señales representativas.

Cabe destacar que, en estas condiciones, el ácido trifluoroacético tiene un efecto distintivo sobre las señales del derivado **1**. A modo de ejemplo, la figura 3.15 muestra los espectros HSQC obtenidos para una mezcla equimolecular de los compuestos **1** y **4** en cloroformo (1 % metanol) antes y después de la adición de 1 μL de ácido trifluoroacético. Puede apreciarse como para el sistema de referencia **4** la protonación parcial de los glicósidos se traduce en un ligero desplazamiento de las señales de protón a campo bajo, de acuerdo con lo esperado. Por el contrario, para el modelo **1**, la protonación parcial de la galactosa induce un desplazamiento significativo en la dirección contraria, es decir, a campo alto. Dicho apantallamiento es especialmente claro para aquellos protones involucrados en enlaces CH/π con la unidad de pireno (es decir H1, H3 y H5). Como consecuencia del mismo, los valores de $\Delta\delta$ promovidos por el sistema aromático en la galactosa crecen significativamente, superando, en algún caso las 3 ppm. Esta observación experimental puede explicarse por el fortalecimiento de

las interacciones de apilamiento en el sistema parcialmente cargado y resulta consistente con la mayor fortaleza de las interacciones catión/ π con respecto a las CH/ π .

La Figura 3.16a muestra la evolución química de una mezcla equimolecular **1**:**2**:**4** tras la adición de 3 μ L de ácido trifílico a 25 °C. Puede apreciarse como el compuesto de referencia **4**, desprovisto de sistema aromático, evoluciona rápidamente para dar una mezcla de productos de metanólisis α y β con un $t_{1/2}$ aproximado de 16 minutos. Por el contrario, en el caso de los modelos **1** y **2**, la reacción es significativamente más lenta, alcanzando un 50 % de evolución a $t_{1/2}$ de 353 y 140 min, respectivamente. Curiosamente, en ambos casos se genera un único producto con configuración β .

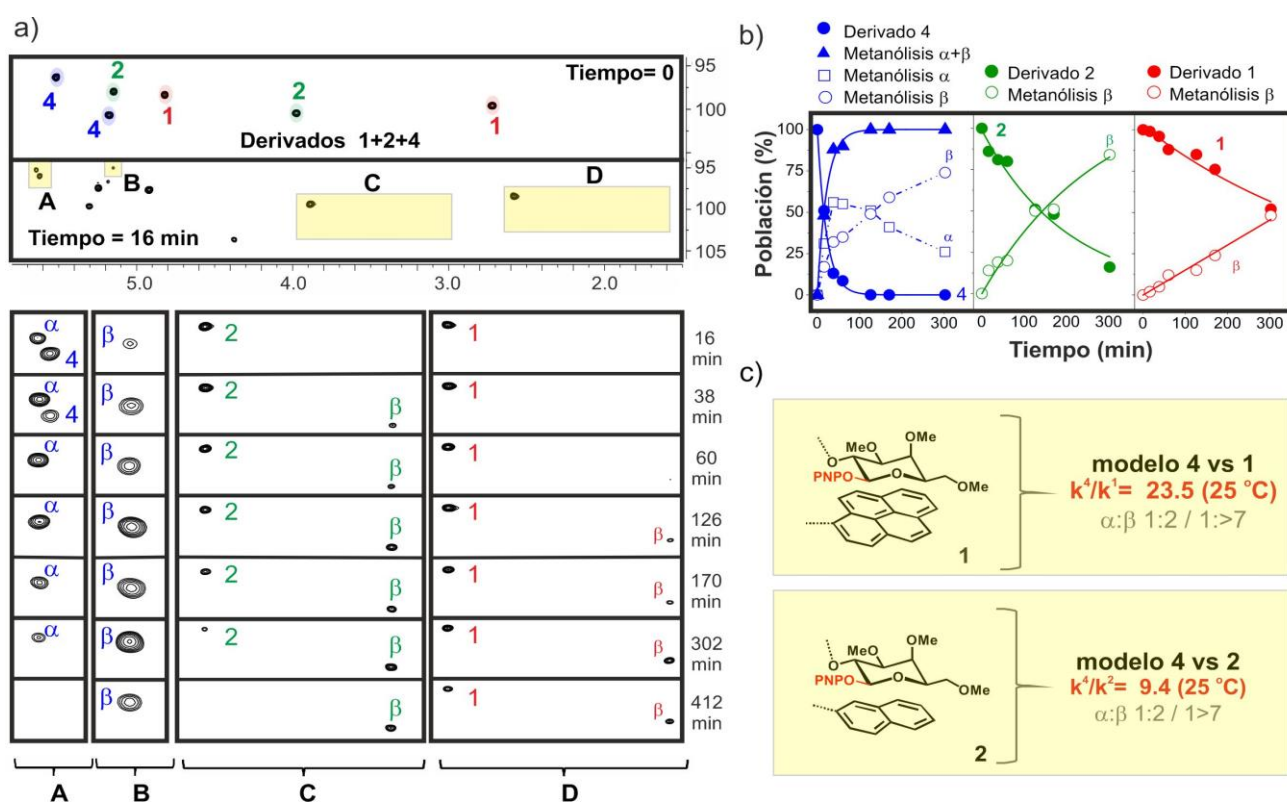


Figura 3.16.- a) Ensayos de reactividad realizados con una mezcla equimolecular **1** (rojo) /**2** (verde) /**4** (azul) en $CDCl_3$ (1 % CD_3OD) a 25 °C. Arriba.- Espectros HSQC (región anomérica) adquiridos para la mezcla inicial ($t=0$) y tras 16 min. de evolución. Abajo.- Expansiones de las regiones A-D (resaltadas en cuadros amarillos) a distintos tiempos de reacción. b) Curvas de reacción obtenidas a partir de la integración de las señales anoméricas para reactivos y productos a diferentes tiempos de reacción. Los ajustes realizados asumiendo una cinética de primer orden se muestran con líneas sólidas. c) Relación de las constantes cinéticas medidas para los pares **4**/**1** y **4**/**2**. Las estereoselectividades obtenidas en cada caso se representan en gris.

Con objeto de cuantificar de forma más precisa la influencia de las interacciones de apilamiento sobre la reactividad de los modelos, se cuantificaron las poblaciones de reactivos y productos, a partir de la integral de señales clave en experimentos 2D-HSQC a distintos tiempos de reacción (ver parte experimental). De esta forma se obtuvieron curvas cinéticas que fueron analizadas asumiendo un modelo de pseudoprimer orden (Figura 3.16b). La influencia de los complejos CH/ π sobre la reactividad de la unidad de galactosa involucradas se expresó en forma de relación de constantes cinéticas ($k^-_{aromático}/k^{+aromático}$), utilizando el compuesto **4** como referencia.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la formación de un complejo CH/ π entre la galactosa reductora y un anillo de naftaleno (modelo **2**) se traduce en una inhibición significativa en la reactividad de la misma (de 9.4 veces, en términos de k). Este efecto es todavía más significativo para el derivado **1**, cuya velocidad de reacción es más de 20 veces inferior a la del sistema de referencia (**4**). En definitiva, se aprecia una clara correlación inversa entre la fortaleza de las interacciones de apilamiento y la reactividad de los modelos estudiados, claramente inferior para el complejo más estable. Dicho efecto inhibitorio va de la mano de un incremento sustancial en la estereoselectividad de la metanólisis, generándose de forma exclusiva el producto β , compatible con los contactos carbohidrato/aromático preexistentes.

Con objeto de generalizar las conclusiones, abordamos estudios similares con los derivados **3** y **5**, portadores de una función acetato como grupo saliente. Nuevamente, pudo comprobarse como la protonación parcial de los mismos promovida por la adición de ácido triflico (1 μ L) en cloroformo (1 % metanol deuterado), se traduce en un fortalecimiento significativo de los complejos de apilamiento, reflejo del carácter parcialmente catiónico adquirido por la unidad reactiva. La evolución química de una mezcla equimolecular **3:5** tras la adición de TfOH fue monitorizada mediante experimentos 2D-HSQC y se muestra en la Figura 3.17. En este caso las diferencias de reactividad observadas son incluso más acusadas que las anteriormente descritas. Así, puede apreciarse como el compuesto de referencia **5**, carente de sistema aromático, es el primero en reaccionar, completando la transformación en aproximadamente 60 min. Por el contrario, el modelo **3** permanece en este punto completamente inalterado. Los experimentos de RMN demuestran que incluso después de 4 horas de incubación adicionales a 25 °C más del 50 % de producto de partida sigue presente en la

muestra. Curiosamente, la evolución preferente de este derivado no implica la sustitución del grupo acetato por un grupo -OMe anomérico, marginal de acuerdo con los datos obtenidos, sino la desacetilación de dicha posición para generar una función OH libre. Este proceso implica el ataque nucleófilo, catalizado por ácido, de una molécula de metanol al grupo éster en vez de a la posición anomérica de la galactosa y por tanto no requiere distorsiones en el anillo de piranosa.

a)



b)

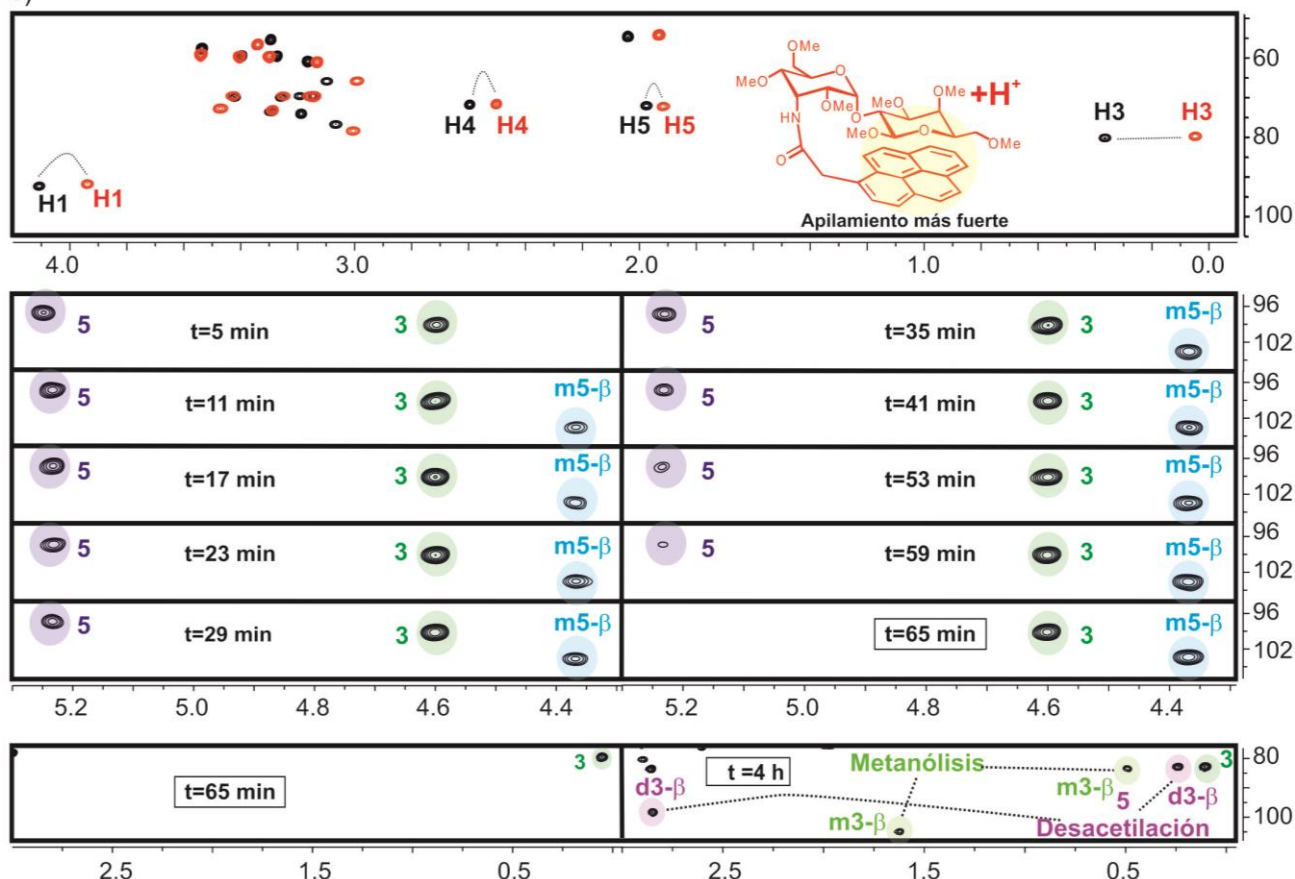


Figura 3.17.- a) Evolución química de una mezcla equimolecular de los derivados **3** y **5** tras la adición de ácido triflico y metanol. b) Espectros HSQC adquiridos para una mezcla equimolecular de **3** (verde)/ **5** (morado) en CDCl₃ (1 % CD₃OD) a 25 °C. Espectros de HSQC a diferentes tiempos de reacción. Se muestra la evolución de la región anomérica a diferentes tiempos de reacción.

Por lo que respecta a los compuestos **6** y **7**, los datos de RMN son consistentes con la existencia de una flexibilidad significativa en torno a las uniones glicosídicas. Este fenómeno, no anticipado en base a cálculos teóricos, tiene su origen en conflictos estéricos entre la función hidroximetilo *O*-metilada del extremo reductor y la unidad de piranosa en posición no reductora. Así, experimentos NOESY realizados con **6** permiten la detección de tres picos de cruce inter-residuo (H1-H4, H1-H3 y H1-H5) incompatibles con una única orientación del enlace aglicónico Ψ . De hecho, dicho patrón de interacciones resulta consistente con la existencia de dos poblaciones conformacionales, habitualmente conocidas como *sin*- Ψ y *anti*- Ψ cuyo valor para dicho ángulo diedro difiere en aproximadamente 180° (valores ϕ/ψ en torno a $-50^\circ/0^\circ$ y $-50^\circ/180^\circ$, respectivamente).

Como consecuencia, las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático involucran parcialmente las dos caras de la glucosa reactiva, tal y como se deduce de las perturbaciones de desplazamiento químico ($\Delta\delta$) promovidas en esta por la unidad de pireno (Figura 3.18). Al igual que en casos anteriores los valores de $\Delta\delta$ se incrementan de forma significativa en presencia de ácido trífico, reflejando la potenciación de las interacciones carbohidrato/aromático en sistemas parcialmente protonados.

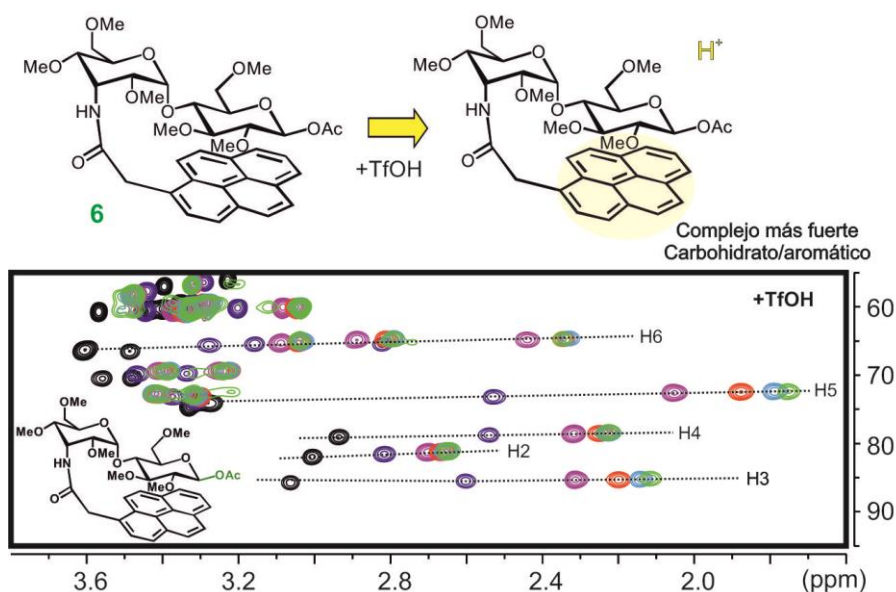


Figura 3.18.- Espectros de HSQC adquiridos para el derivado **6** en CDCl_3 (1 % CD_3OD , a 5°C) antes (negro) y después de la adición de 1 (morado), 2 (rosa), 3 (rojo), 4 (azul) y 5 μL (verde) de TfOH . Las perturbaciones de δ ($\Delta\delta$) observadas afectan a ambas caras de la piranosa reactiva, lo que resulta consistente con la existencia de una mezcla de complejos en equilibrio.

La Figura 3.19 muestra la evolución química de una muestra equimolecular **6:7** en cloroformo (1 % metanol deuterado) tras la adición de 4 μL de ácido trifílico, junto con las curvas cinéticas deducidas a partir de los datos de RMN. Puede apreciarse como nuevamente el anillo de pireno tiene un efecto inhibitorio sobre la reactividad de la unidad de glucosa, si bien en este caso es muy inferior al observado para el resto de modelos. El carácter relativamente menor de dicho efecto es probablemente el resultado de la mayor flexibilidad del sistema.

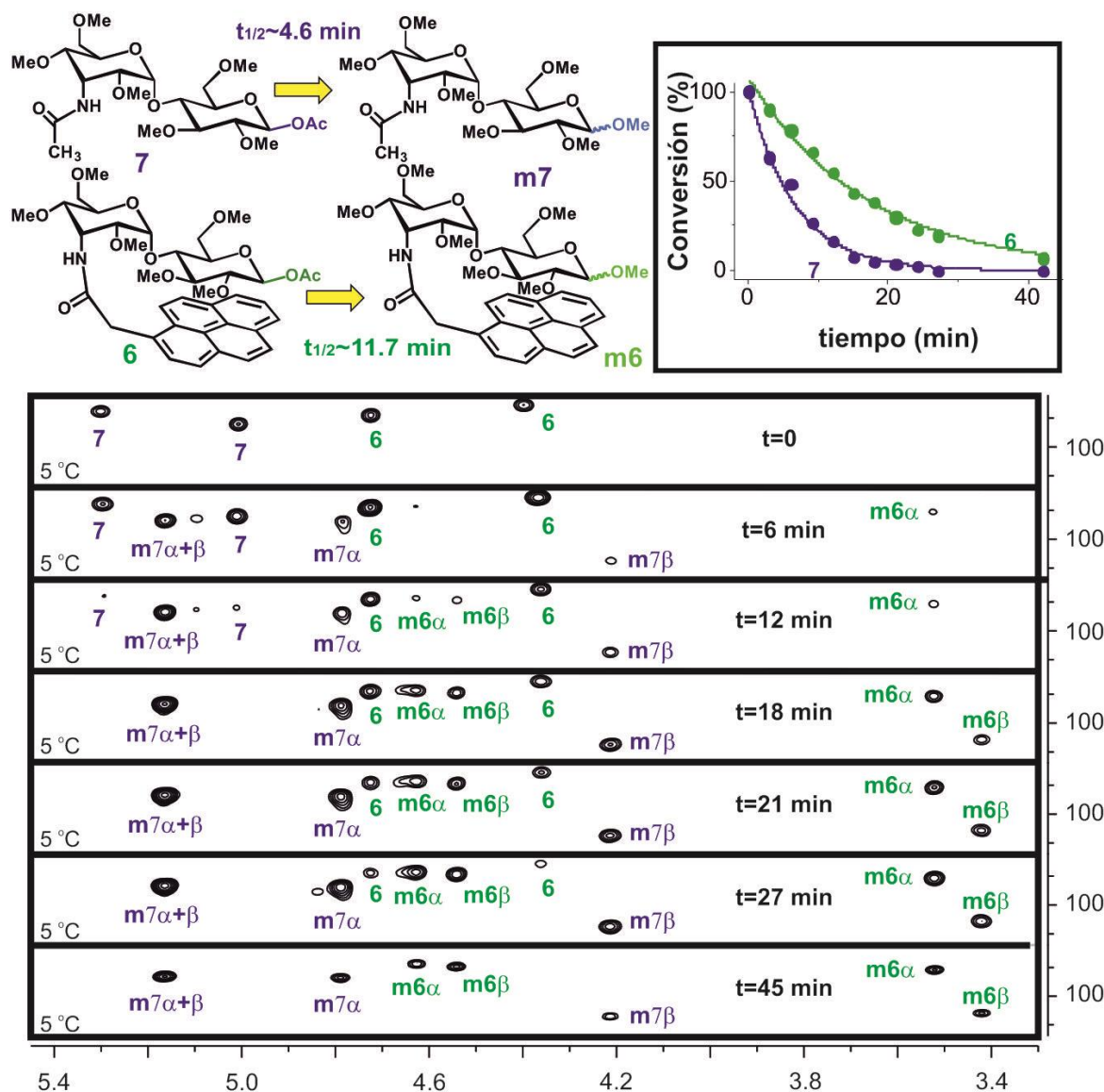
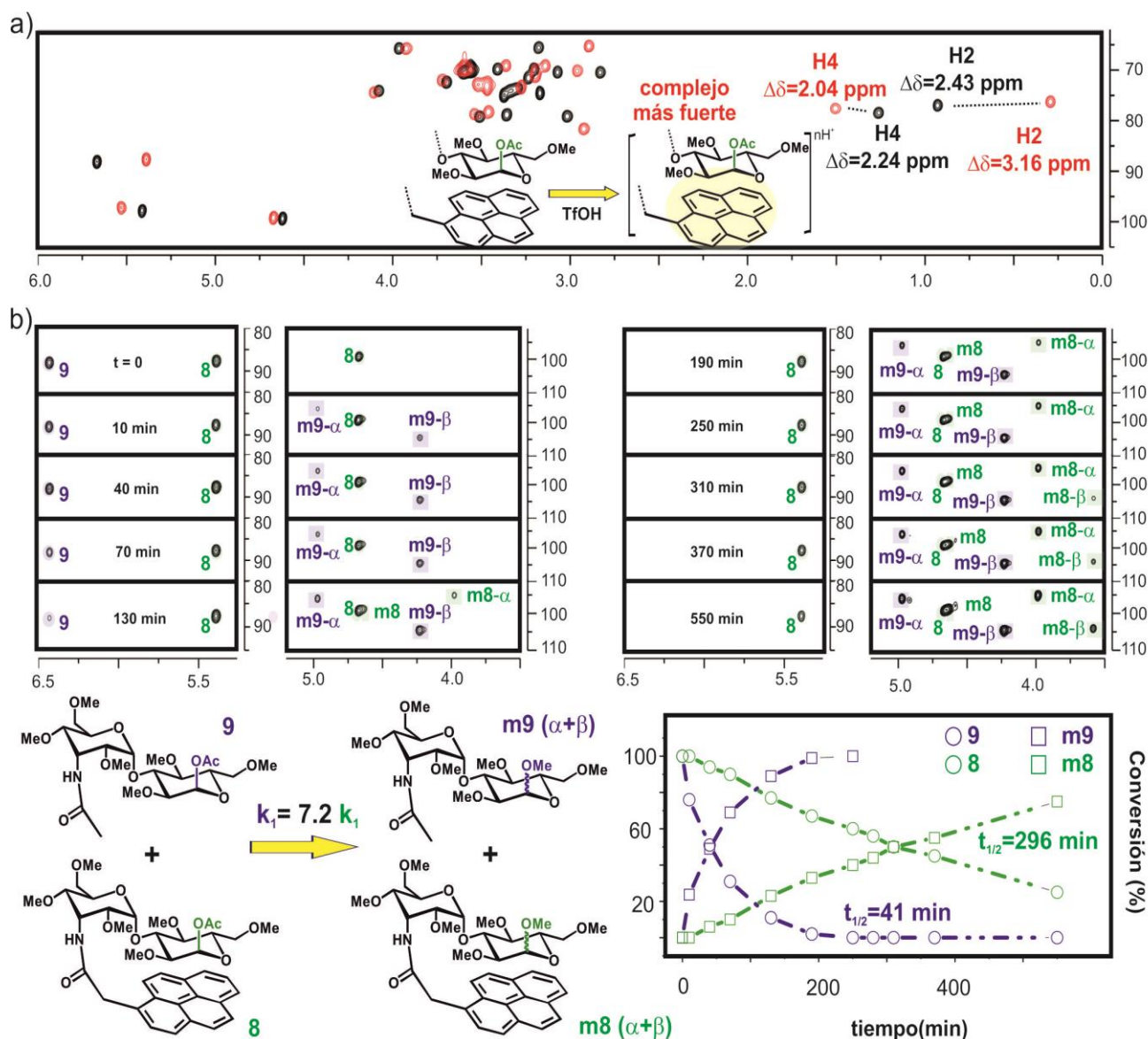


Figura 3.19.- Evolución temporal de una mezcla equimolecular de los compuestos **6** y **7** en CDCl_3 (1 % CD_3OD , 5 °C), tras la adición de 5 μL de ácido trifílico monitorizada mediante espectros HSQC (región anomérica). Los picos de cruce se etiquetan de acuerdo con el código de colores que se muestra en la parte superior. Adicionalmente se muestran las curvas de reacción medidas para el consumo de **6** y **7** a partir de la integración de los picos anoméricos junto con los ajustes de primer orden correspondientes (parte superior derecha).

Finalmente, se analizó el comportamiento de los modelos **8** y **9** utilizando una metodología experimental enteramente análoga a la anteriormente descrita para el resto de componentes de la familia I (Figura 3.20).



Cabe destacar que, en este caso, las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático involucran la cara β de la unidad de glucosa y por tanto

implican la participación del oxígeno endocíclico en enlaces n/π con la unidad de pireno. A pesar de ello, las perturbaciones de desplazamiento químico ($\Delta\delta$) detectadas reflejan la formación de un complejo estable, cuya fortaleza se incrementa en medio ácido (Figura 3.20).

Empleando experimentos de competición similares a los ya descritos obtuvimos los perfiles de reacción correspondientes a los derivados **8** y **9** así como las constantes cinéticas respectivas. Sus valores fueron plenamente consistentes con el comportamiento general de esta familia de compuestos y reflejan una ralentización en la velocidad de metanólisis promovida por las interacciones de apilamiento.

Los resultados generales obtenidos para los modelos tipo I, empleados en este estudio se resumen en la Figura 3.21. De acuerdo con ellos, la unidad de pireno tiene en todos los casos un impacto negativo sobre la reactividad de los glicósidos, observándose disminuciones en las velocidades de metanólisis de entre 23.5 y 2.6 veces. Dichos efectos inhibitorios van en ocasiones acompañados de incrementos significativos en la estereoselectividad de la reacción, especialmente en el caso de los complejos carbohidrato/aromático más estables. El comportamiento observado puede explicarse asumiendo que las unidades de pireno ejercen una estabilización preferente del glicosido inicial ("ground state") y activado (protonado) sobre los estados de transición lo cual se traduce en un incremento neto en las energías de activación. Este comportamiento podría, en principio, ser tremendamente dependiente del contexto químico, siendo la flexibilidad de la piranosa, la fortaleza de las interacciones de apilamiento o los detalles mecanísticos del proceso, parámetros clave a considerar. Decidimos, por tanto, proseguir nuestro estudio, analizando la reactividad de los modelos tipo II.

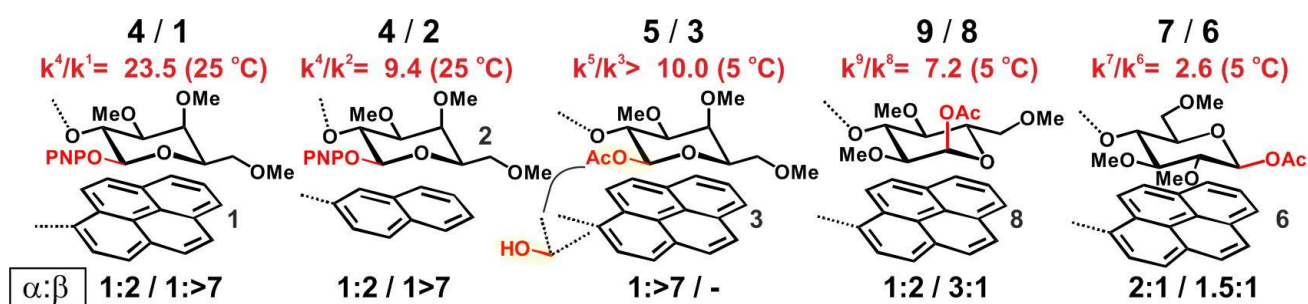


Figura 3.21.- Relaciones de constantes cinéticas medidas para los compuestos **1-3**, **6** y **8** con respecto a la referencia correspondiente. Abajo se muestran las estereoselectividades $\alpha:\beta$ resultantes en cada caso.

3.3.2.- COMPORTAMIENTO DE LOS MODELOS TIPO II EN REACCIONES DE GLICOSILACIÓN.

A la vista de los resultados obtenidos para los modelos tipo I, decidimos explorar la influencia del pireno sobre la reactividad de los derivados tipo II en reacciones de glicosilación. Tal y como se ha mencionado con anterioridad, estos sistemas combinan interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático más débiles y dinámicas con la presencia de unidades de piranosa conformacionalmente restringidas. De hecho, como se detalla más adelante, el carácter dinámico de los enlaces CH/ π , queda reflejado en las menores perturbaciones de desplazamiento químico observadas en los derivados **10**, **11** y **16** en relación a los modelos tipo I (a pesar de que en el primer caso estas están medidas a temperaturas inferiores a -50 °C).

Con objeto de evaluar su reactividad, los sistemas tipo II fueron ensayados en reacciones de glicosilación a baja temperatura. El mecanismo comúnmente asumido para las mismas se muestra en la Figura 3.22 e involucra dos sustituciones consecutivas sobre el centro anomérico, con la formación de un α -triflato de glicosilo como intermedio clave. Los estados de transición de ambos procesos pueden ser más o menos disociativos, dependiendo de la naturaleza química del donador y aceptor, así como de las condiciones de reacción. Es preciso destacar que varios de los intermedios generados presentan carácter catiónico. Esta afirmación podría ser extensiva a varios de los estados de transición involucrados en el proceso (particularmente, en caso de tratarse de reacciones de sustitución unimoleculares). Debido a la mayor fortaleza de las interacciones catión/ π con respecto a las CH/ π , tanto intermedios como estados de transición catiónicos podrían ser objeto de estabilización preferente por plataformas aromáticas (Figura 3.22).

Las reacciones de glicosilación fueron llevadas a cabo de forma individual con cada modelo (derivados **10-19**), así como en experimentos de competición por pares, con fines comparativos. Considerando el carácter multicomponente de estos procesos así como su mayor complejidad técnica, los ensayos de reactividad individuales fueron ejecutados por triplicado, empleando condiciones idénticas de reacción. En todos estos casos, se empleó un protocolo sin pre-activación. De acuerdo con este, los reactivos (donador, aceptor y base) fueron disueltos en CDCl₃ y enfriados a la temperatura adecuada. Los donadores de glicosilo fueron, a continuación, activados con anhídrido triflico en presencia de 5-8 equivalentes de

aceptor (TFE), dependiendo del compuesto modelo (ver parte experimental). Dichas reacciones fueron ejecutadas en tubos de RMN en un rango de temperaturas comprendido entre los -50 y -65 °C y monitorizadas mediante experimentos 1D ^1H -RMN o bidimensionales 2D-HSQC, empleando sistemas sin marcar o etiquetados en ^{13}C respectivamente. Con objeto de poder integrar las mezclas de reacción, se incluyó un estándar interno de 4,4,5,5-tetrametil-2-(1-naftalenil)-1,3-dioxolano.¹¹⁶

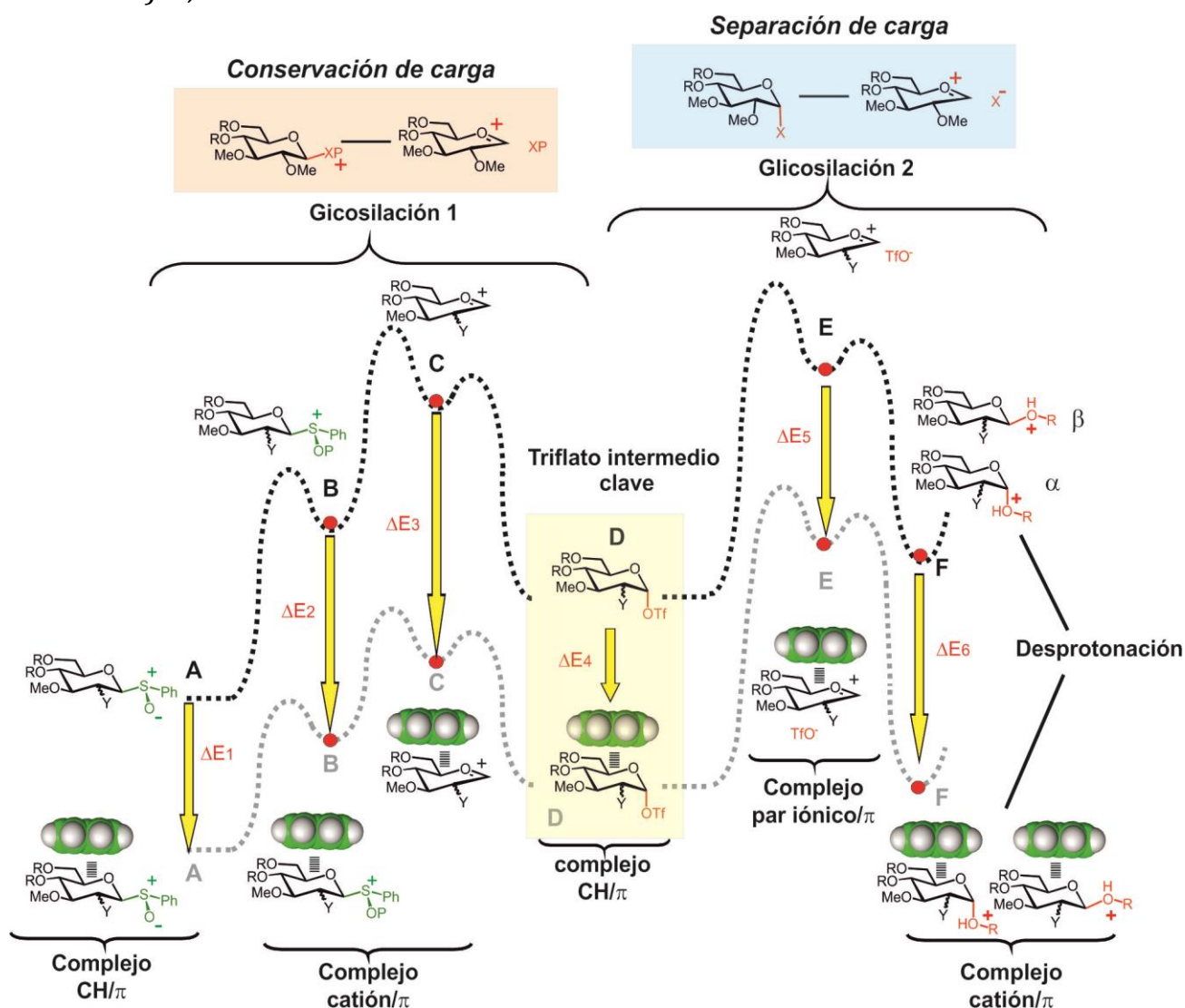


Figura 3.22.- Representación esquemática del mecanismo asumido actualmente para las reacciones de glicosilación realizadas con glicosilsulfóxidos.

Adicionalmente, en casos concretos se realizaron ensayos con pre-activación en ausencia de especie aceptora. Dichos experimentos estuvieron fundamentalmente orientados a la identificación y caracterización (si su estabilidad lo permite) de intermediarios altamente reactivos tipo α -glicosil

triflatos. Para ello se disuelve el donador de glicosilo junto con la base (DTBMP) en cloroformo deuterado a las concentraciones requeridas, se introduce la mezcla en un tubo de RMN y se enfría a la temperatura de trabajo. A continuación, se activa el donador mediante la adición de Tf_2O en ausencia de la especie aceptora. Finalmente, pasado un cierto tiempo, se procede a añadir el aceptor (Figura 3.23). En todos los casos, y con independencia del protocolo empleado, las reacciones fueron finalmente detenidas mediante la adición de 100 μL de una disolución saturada de NaHCO_3 en agua deuterada.

Los protocolos de reacción, sin (para todas las muestras) y con pre-activación (en casos concretos) empleados se representan de modo esquemático en la Figura 3.23.

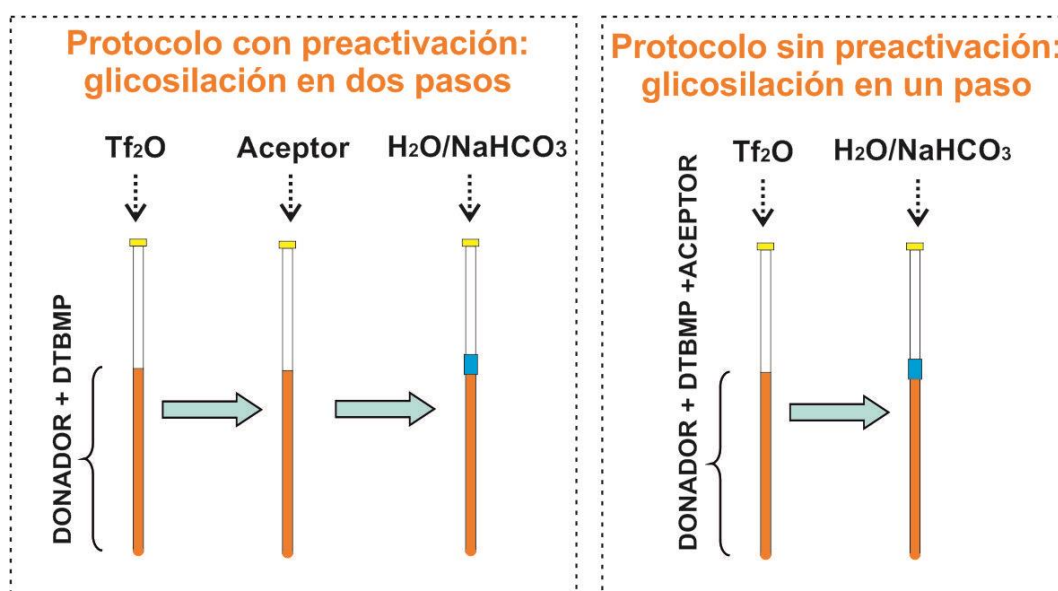


Figura 3.23.- Protocolos de glicosilación, con y sin pre-activación, empleados en los estudios de reactividad de los modelos tipo II.

Finalmente, mencionar que los compuestos tipo II incluyen, en realidad, dos sulfóxidos de quiralidad opuesta, denominados en la presente tesis como sulfóxidos 1 y 2 por su retención en columna cromatográfica. Todos los ensayos de reactividad descritos en la presente sección se realizaron empleando modelos estereoméricamente puros. Para cada modelo se realizaron ensayos con ambos estereómeros con objeto de comprobar que las conclusiones obtenidas son independientes de dicho parámetro estructural. Por simplicidad, en adelante se discuten los datos obtenidos con sulfóxidos 1, mostrando en casos concretos reacciones realizadas con los sulfóxidos de quiralidad opuesta.

3.3.2.1.- Estudio de reactividad de los derivados de manosa **10**, **12** y **13**.

Por lo que respecta al derivado de manosa **10**, los datos de desplazamientos químicos de protón obtenidos de los espectros de RMN, mostraron que la geometría de apilamiento preferida involucra la cara α de la piranosa. Así, las señales de H1, H3 y H5 aparecen claramente desplazadas a campo alto con respecto a las observadas en los modelos de referencia (**12** y **13**).

Con objeto de identificar y caracterizar los posibles intermediarios tipo triflato generados tras la activación de los sulfóxidos anoméricos, llevamos a cabo primeramente ensayos con pre-activación. Para ello se realizaron espectros de ^1H y ^{19}F antes y después de la adición de Tf_2O (1.5 equiv.) sobre una mezcla del donador objeto de estudio (**10-13**) con la base (3 equiv. de DTBMP) en cloroformo a -50°C . (Figura 3.24).

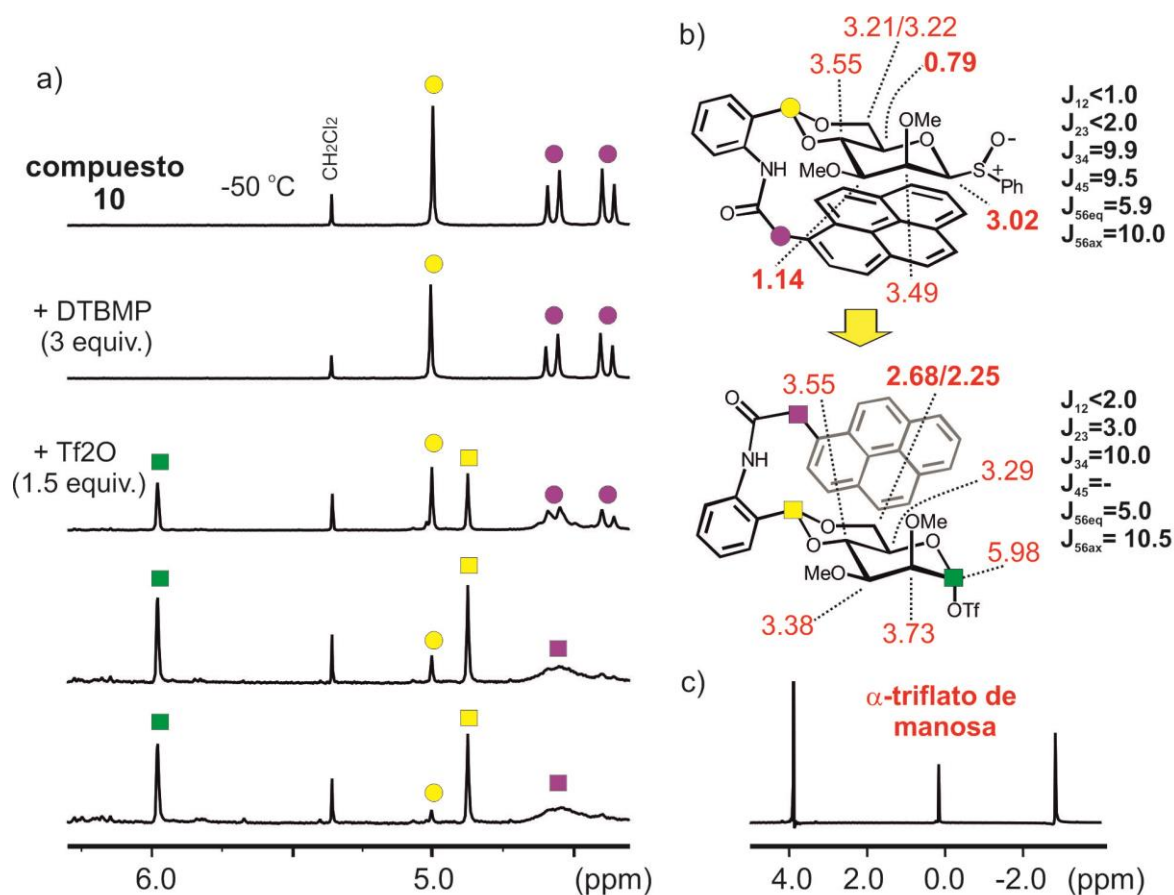


Figura 3.24.- Estudios de pre-activación. a) Espectros de ^1H -RMN del compuesto **10** antes y después de la adición de DTBMP (3 equiv.) y Tf_2O (1.5 equiv.) a -50°C . b) Desplazamientos químicos y valores de constantes de acoplamiento J medidos para el compuesto **10** y el α -triflato de manosa. c) Señales clave del espectro de ^{19}F -RMN (referenciado con respecto al TFA a 0 ppm) donde la señal del α -triflato de manosa se marca en rojo.

Los datos espectroscópicos obtenidos demuestran en todos los casos la formación de los triflatos intermedios. Cabe señalar, que en el caso del compuesto **10**, dicha reacción requiere, por razones de impedimento estérico, una sustancial reorganización del complejo carbohidrato/aromático. Esto es posible debido al carácter altamente dinámico y flexible de los modelos tipo II, donde la rotación del grupo bencilideno está permitida. De acuerdo con esto, la unidad de pireno se desplaza de la cara α de la manosa, adoptando una disposición lateral en la cual forma enlaces CH/ π con el grupo hidroximetilo en posición 6 de la piranosa. Dicha interacción queda reflejada en sus señales de protón desplazadas a campo alto 1.7 ppm.

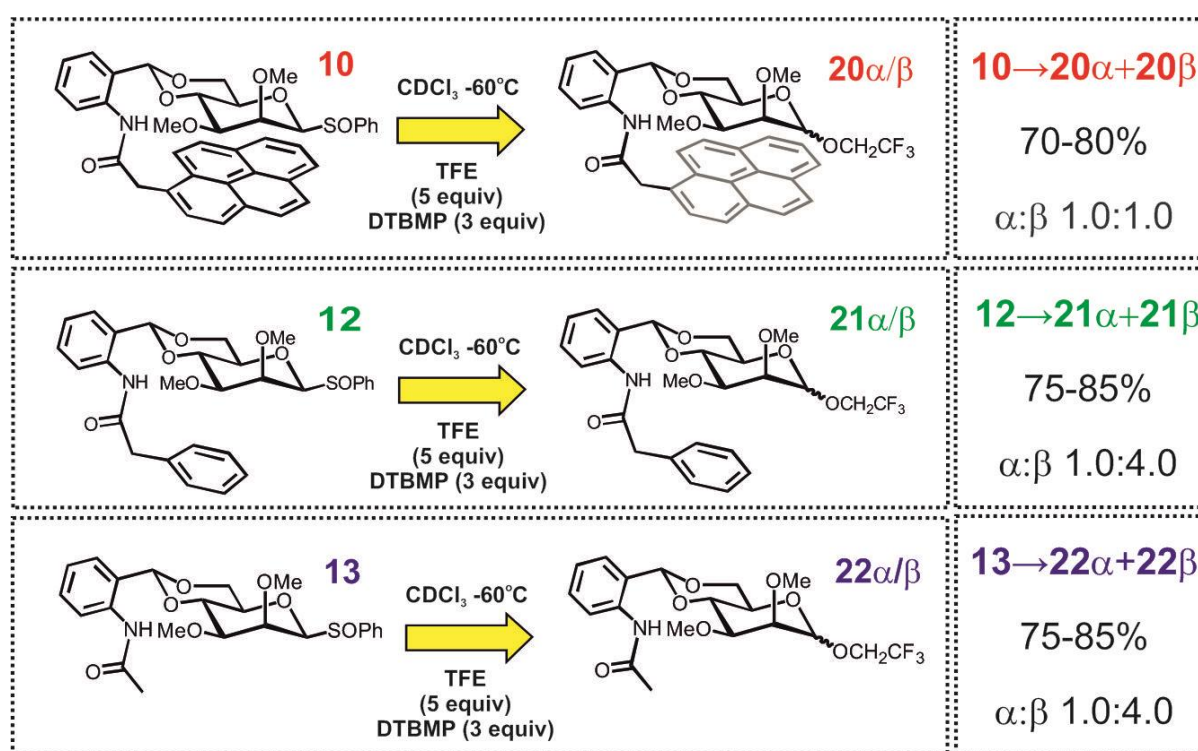


Figura 3.25.- Reacciones de glicosilación individuales con TFE de los derivados de manosa **10**, **12** y **13**: Rendimientos y estereoselectividades.

Los experimentos con pre-activación son útiles para identificar intermedios, pero debido a que requieren dos adiciones independientes (primero del activante y segundo de la especie aceptora), resultan poco prácticos para establecer comparaciones de reactividad entre los distintos donadores modelo. Por esta razón, con el fin de analizar la influencia de las unidades aromáticas sobre la reactividad de los mismos, llevamos a cabo reacciones de glicosilación en presencia del aceptor, más sencillas desde un punto de vista experimental.

Primeramente, se realizaron reacciones de glicosilación de manera individual (con TFE como aceptor) empleando el derivado de manosa portador de un anillo de pireno (**10**) y sus correspondientes modelos de referencia (**12** y **13**). Los resultados obtenidos en las mismas se muestran en la Figura 3.25. Estos evidenciaron, una ligera disminución en el rendimiento acompañada por una completa desaparición de la estereoselectividad en presencia de la plataforma aromática (de α/β 1:4 en los modelos de referencia a 1:1 en el modelo con pireno). Cabe destacar que, a pesar de que las reacciones se realizaron en presencia de cantidades sobreestequiométricas de aceptor (5 equivalentes de TFE), en todos los casos se detectaron concentraciones transitorias del intermedio α -triflato, previamente identificado, siendo estas particularmente evidentes en el caso del derivado con pireno **10** (ver figura 3.26).

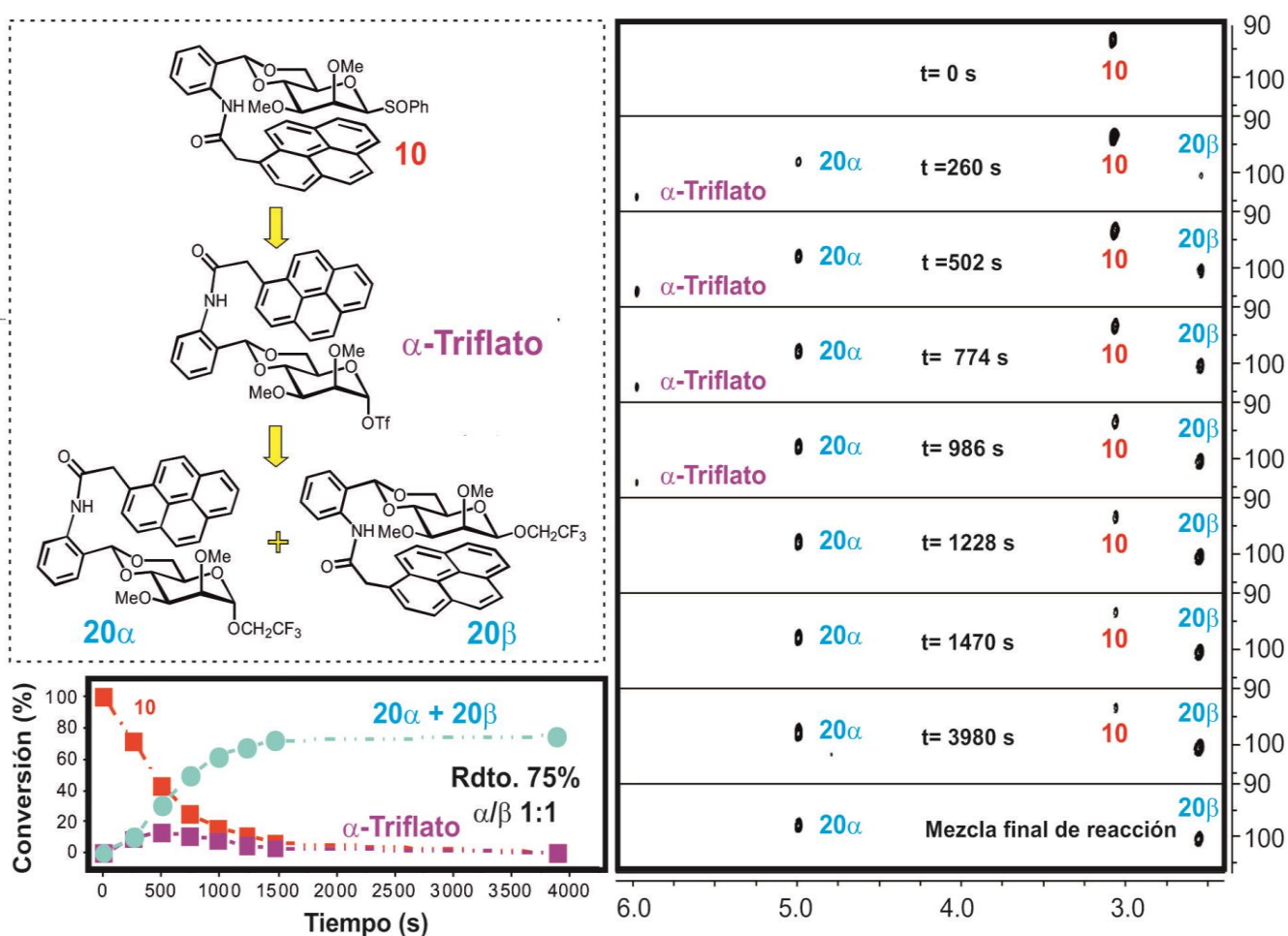


Figura 3.26.- Evolución temporal del derivado **10** marcado en ^{13}C (10 mM) en presencia de TFE (5 equiv.) y DTBMP (1.5 equiv.) a -50°C .

Con el fin de estimar el efecto de los apilamientos sobre las cinéticas de reacción, se realizaron experimentos adicionales con mezclas equimoleculares del compuesto (**10**) y su modelo de referencia (**13**) en presencia de 5 equivalentes de aceptor. La aparición de los diversos productos de reacción (**20 α / β** y **22 α / β**) se monitorizó a tiempos cortos (5-10 min) mediante RMN. Ello fue posible, en parte, gracias a la sensibilidad extra proporcionada por los modelos de manosa etiquetados en ^{13}C en posición anomérica. Las poblaciones relativas así estimadas fueron consideradas un reflejo de las velocidades relativas de formación.

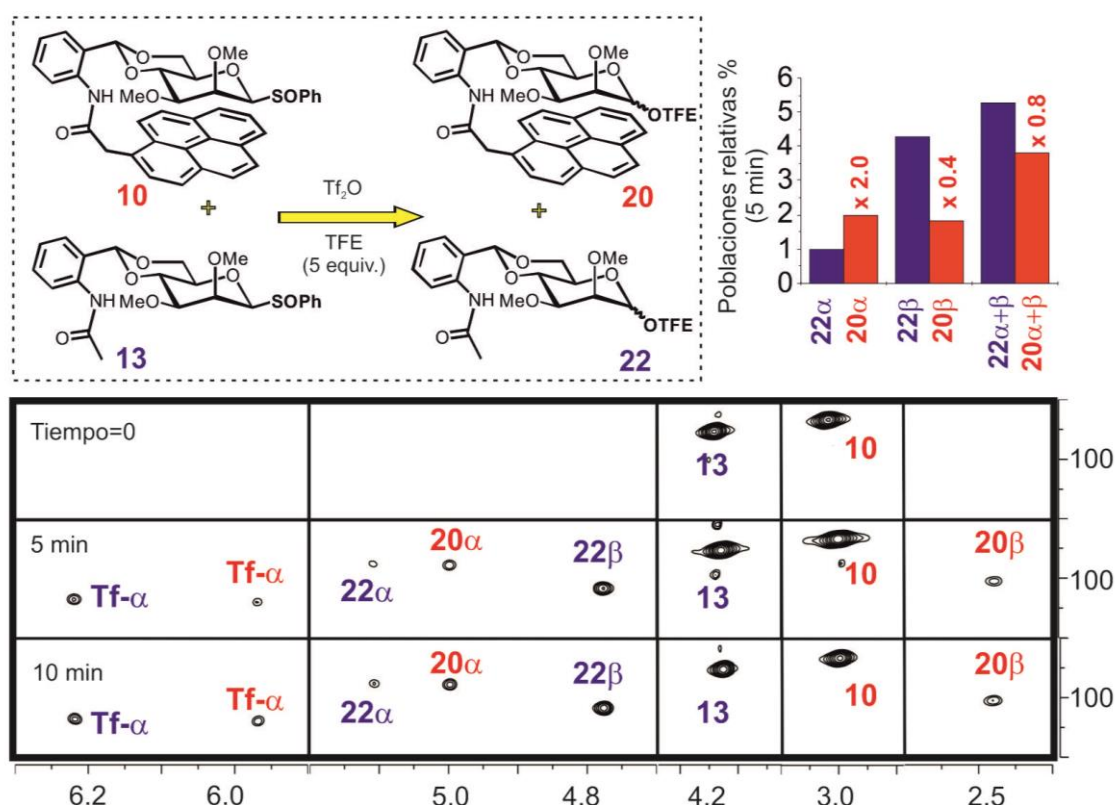


Figura 3.27.- Experimento de competición realizado con una mezcla equimolecular de **10/13** marcada en ^{13}C a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se muestran regiones representativas de los espectros HSQC adquiridos a tres tiempos de reacción diferentes. Representación gráfica de las poblaciones relativas observadas para los productos de glicosilación de manosa (**20 α / β** y **22 α / β**) a tiempos cortos de reacción (5 min).

Los resultados obtenidos revelaron que el apilamiento ejercido por el anillo aromático tiene un efecto opuesto sobre la velocidad de formación individual del anómero α y β (ver figura 3.27). Así, pudimos constatar que, en presencia del anillo aromático, la formación del anómero α (**20 α** vs **22 α**) se incrementaba dos

veces, mientras que la del anómero β disminuía a la mitad, aproximadamente. Dichas observaciones resultan enteramente consistentes con la degradación de la estereoselectividad observada.

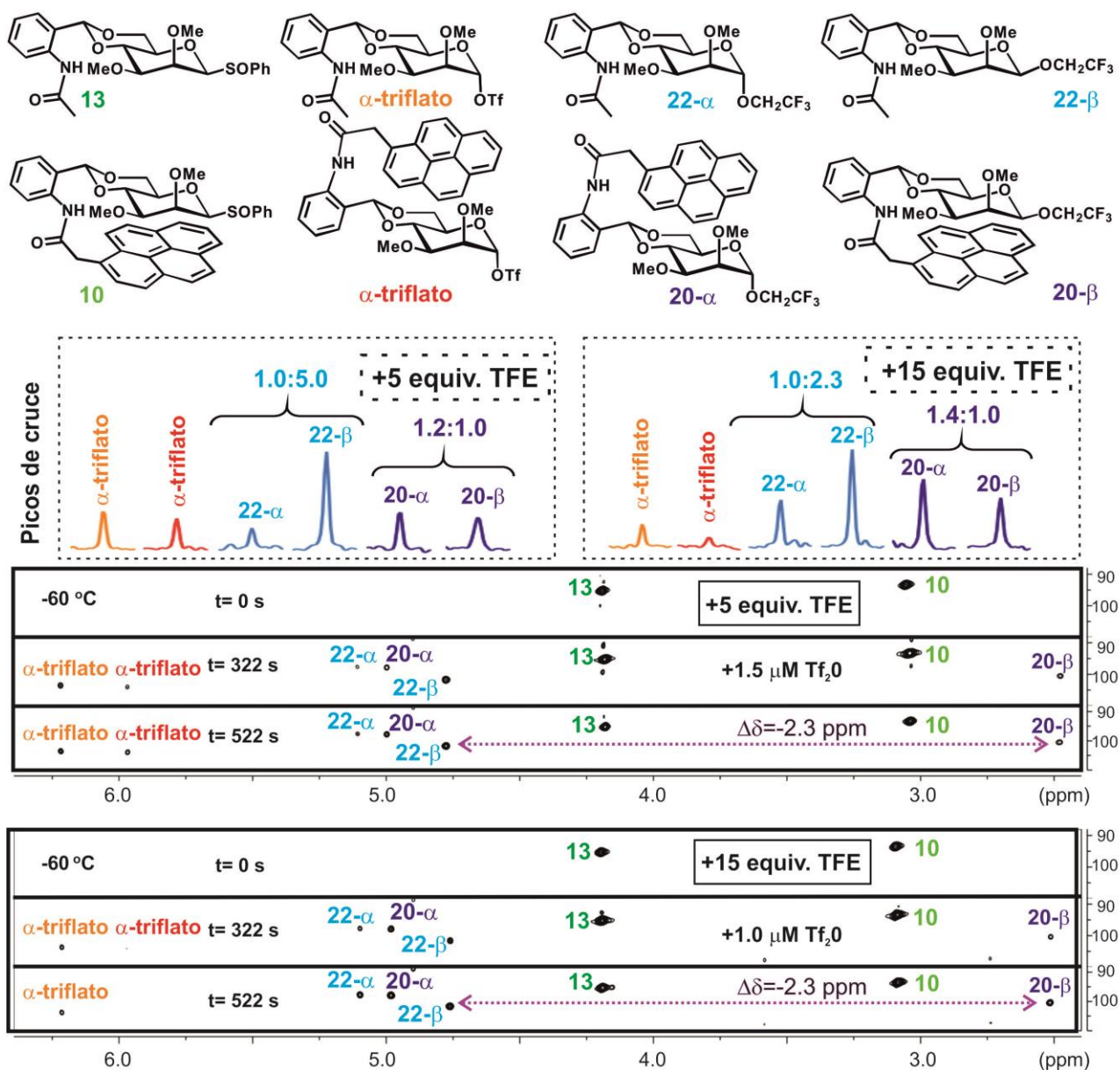


Figura 3.28.- Evolución temporal de una mezcla equimolecular de **10/13** marcada en ^{13}C en presencia de 5 (arriba) o 15 (abajo) equivalentes de TFE a -60°C , tras la adición de Tf_2O (2 equiv.). En la parte superior se muestran las secciones transversales de las señales anoméricas detectadas para los modelos **10/13**, los triflatos intermedios y los productos **20/22** a $t=322$ s, en cada caso.

Cabe destacar que, los espectros de RMN ponen de manifiesto una espectacular diferencia de desplazamiento químico para las señales anoméricas

de los productos **22 β** y **20 β** (resaltadas con una flecha punteada en la Figura 3.28). Dicha diferencia refleja claramente la fortaleza del complejo de apilamiento establecido entre el sistema pirénico y la cara α de la piranosa en el derivado **20 β** .

Experimentos adicionales de competición fueron realizados en presencia de 15 equivalentes de TFE. Resulta interesante observar que, incluso en presencia de un gran exceso de aceptor (TFE), fuimos capaces de detectar, durante el curso de la reacción, los α -triflatos de glicosilo de los derivados **10** y **13**. Este hecho puede interpretarse como un reflejo del mayor carácter nucleofílico del anión triflato con respecto al trifluoroetanol o la unidad de pireno^{43, 56-57, 94} (ver Figura 3.28) y parece indicar que los triflatos de glicosilo actúan siempre como intermedios de la reacción, independientemente del protocolo empleado (con o sin pre-activación). Finalmente, es preciso mencionar que en estas condiciones se aprecia una cierta variación en la estereoselectividad de los procesos. Esta observación parece sugerir que, a pesar de tratarse de un nucleófilo débil, la utilización de un fuerte exceso de TFE, permite, en cierta medida, la sustitución directa del sulfóxido activado por el alcohol aceptor, sin pasar por el intermedio tipo triflato.

3.3.2.2.- Estudio de reactividad de los derivados de glucosa **11**, **14** y **15**.

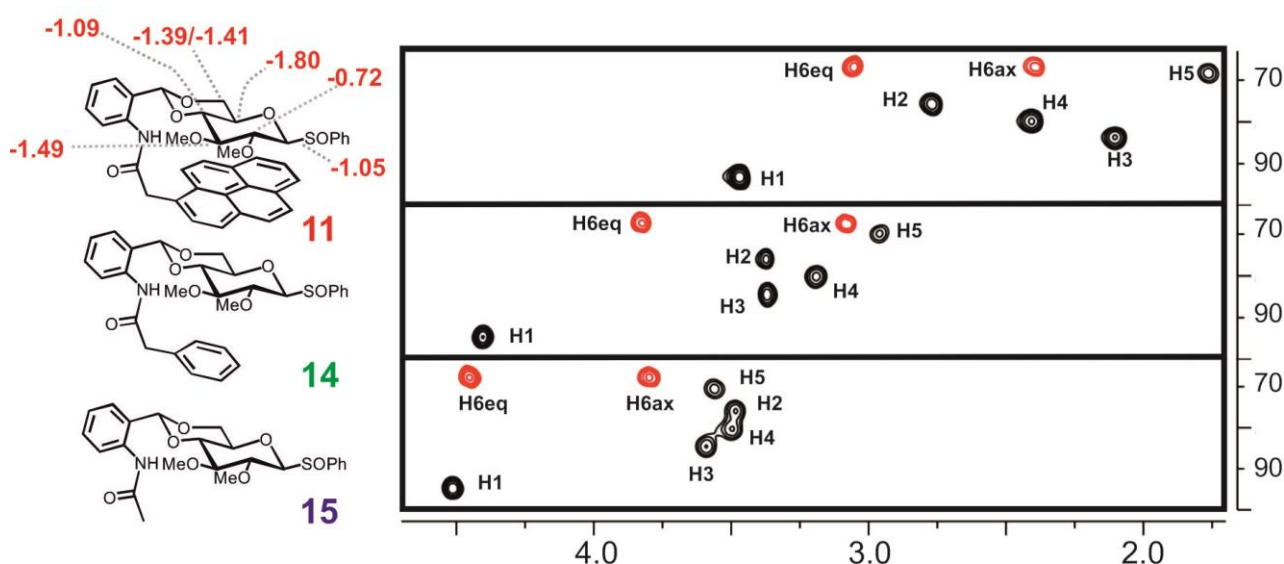


Figura 3.29.- Espectros HSQC adquiridos con muestras marcadas en ¹³C de los derivados **11, **14** y **15** (de arriba a abajo) a -60 °C. Influencia de la plataforma de pireno sobre los desplazamientos químicos de la piranosa.**

En el caso del derivado **11** de glucosa, los datos espectroscópicos mostraron perturbaciones significativas en los valores de desplazamiento químico de ^1H -RMN tanto para los protones expuestos en la cara α como en la β de la unidad de piranosa. Esta observación refleja el comportamiento altamente dinámico del sistema, e indica que la unidad de pireno no se posiciona sobre una de las caras de la piranosa, si no que interacciona con ambas de forma alternativa (Figura 3.29). La coexistencia de dos complejos en disolución, deducida de los datos de desplazamiento químico resulta plenamente consistente con las simulaciones de dinámica molecular previamente realizadas con **11** y comentadas en el apartado 3.1 de la presente tesis doctoral (Figura 3.4).

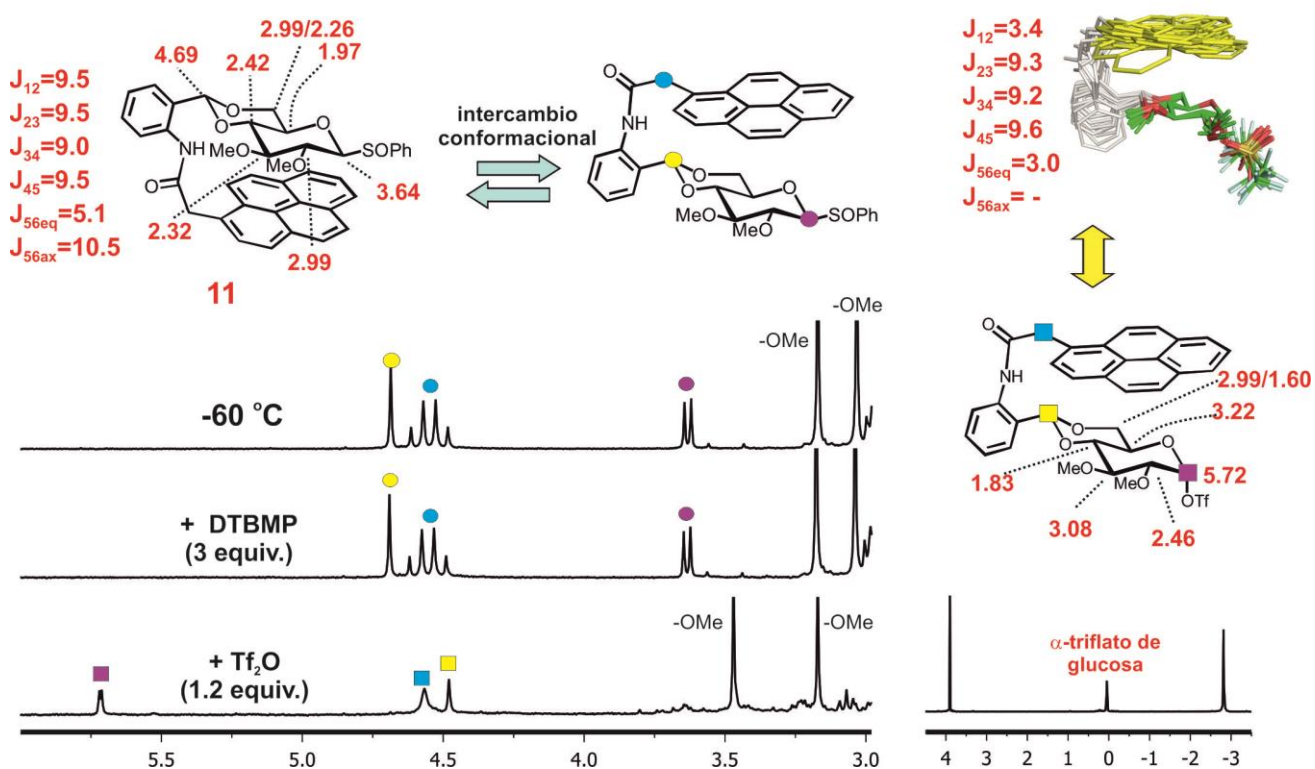


Figura 3.30.- Activación del derivado **11** con Tf₂O (1.5 equiv.) realizada en ausencia de especie aceptora a -60 °C. Se muestran los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento medidas para el derivado **11** (arriba-izquierda) y el triflato correspondiente (arriba-derecha). Los datos obtenidos para esta última especie intermedia son consistentes con la formación de un complejo carbohidrato/aromático que involucra la cara β de la piranosa, en consonancia con las predicciones de dinámica molecular. A efectos comparativos, en la parte superior-derecha de la figura se muestra un conjunto de estructuras derivadas de la trayectoria dinámica calculada para dicha especie en presencia de cloroformo explícito. Finalmente, en la parte inferior-derecha se representa un espectro de ^{19}F -RMN correspondiente a la mezcla de reacción. Se destaca la señal de fluor correspondiente al triflato de glicosilo.

Con objeto de identificar y caracterizar las propiedades conformacionales de intermediarios clave tipo triflato, realizamos primeramente experimentos de activación, en ausencia de especie aceptora (Figura 3.30). Los resultados obtenidos, indican que, en el caso del donador **11**, el intermedio formado presenta fuertes interacciones de apilamiento CH/ π entre la plataforma aromática y la unidad de piranosa. Sin embargo, en este caso, dichas interacciones involucran de modo exclusivo la cara β de esta, a juzgar por los desplazamientos químicos de protón observados. Cabe mencionar que la geometría del complejo donador/aromático detectada está forzada por la presencia de un triflato axial en la cara α de la piranosa.

A continuación, de forma análoga a los experimentos previamente descritos para los modelos de manosa, se realizaron reacciones de glicosilación, sin pre-activación, con el derivado de glucosa **11**, así como con sus correspondientes modelos de referencia **14** y **15**.

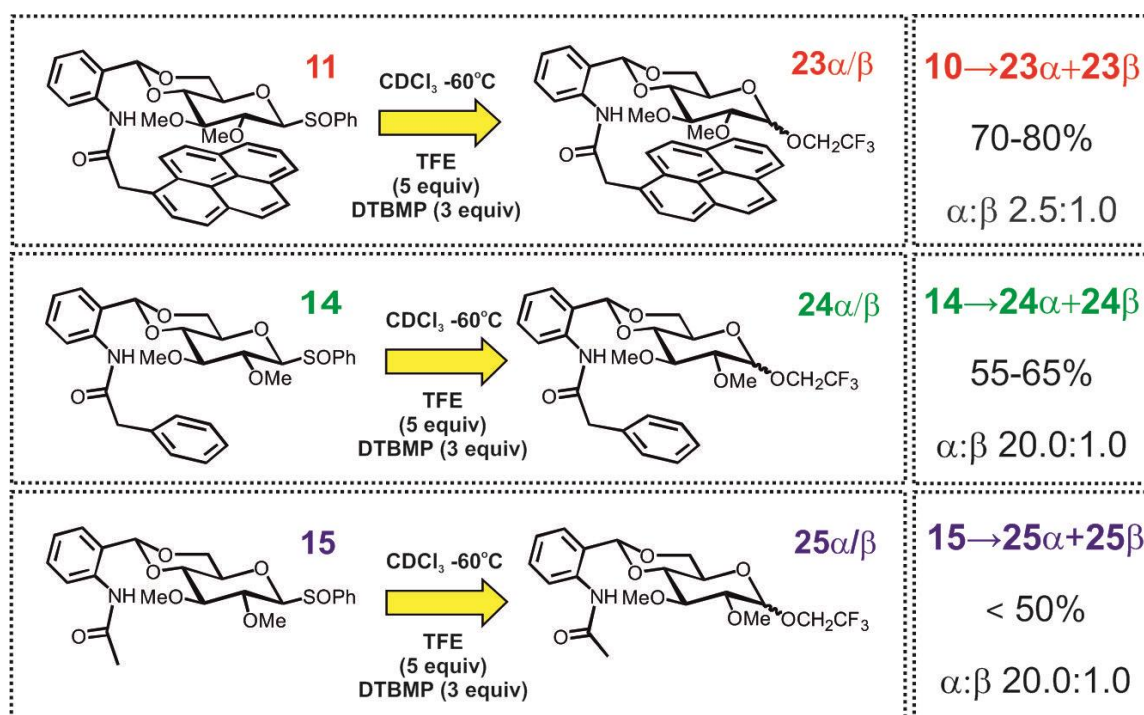


Figura 3.31.- Reacciones de glicosilación sin pre-activación realizadas de modo individual con los derivados de glucosa **11**, **14** y **15**, empleando TFE como aceptor (5 equivalentes): Rendimientos y estereoselectividades.

Los resultados obtenidos (Figura 3.31) revelaron que el anillo de pireno promueve una mejora en el rendimiento del proceso. Curiosamente, este va de la

mano con una dramática disminución en la estereoselectividad del mismo. Así, mientras para los sistemas de referencia la reacción procede con total estereoselectividad, generando un único producto de glicosilación detectable (relación $\alpha:\beta >20:1$) en el caso del derivado **11** se obtienen mezclas α/β en el rango 2:1-3:1.

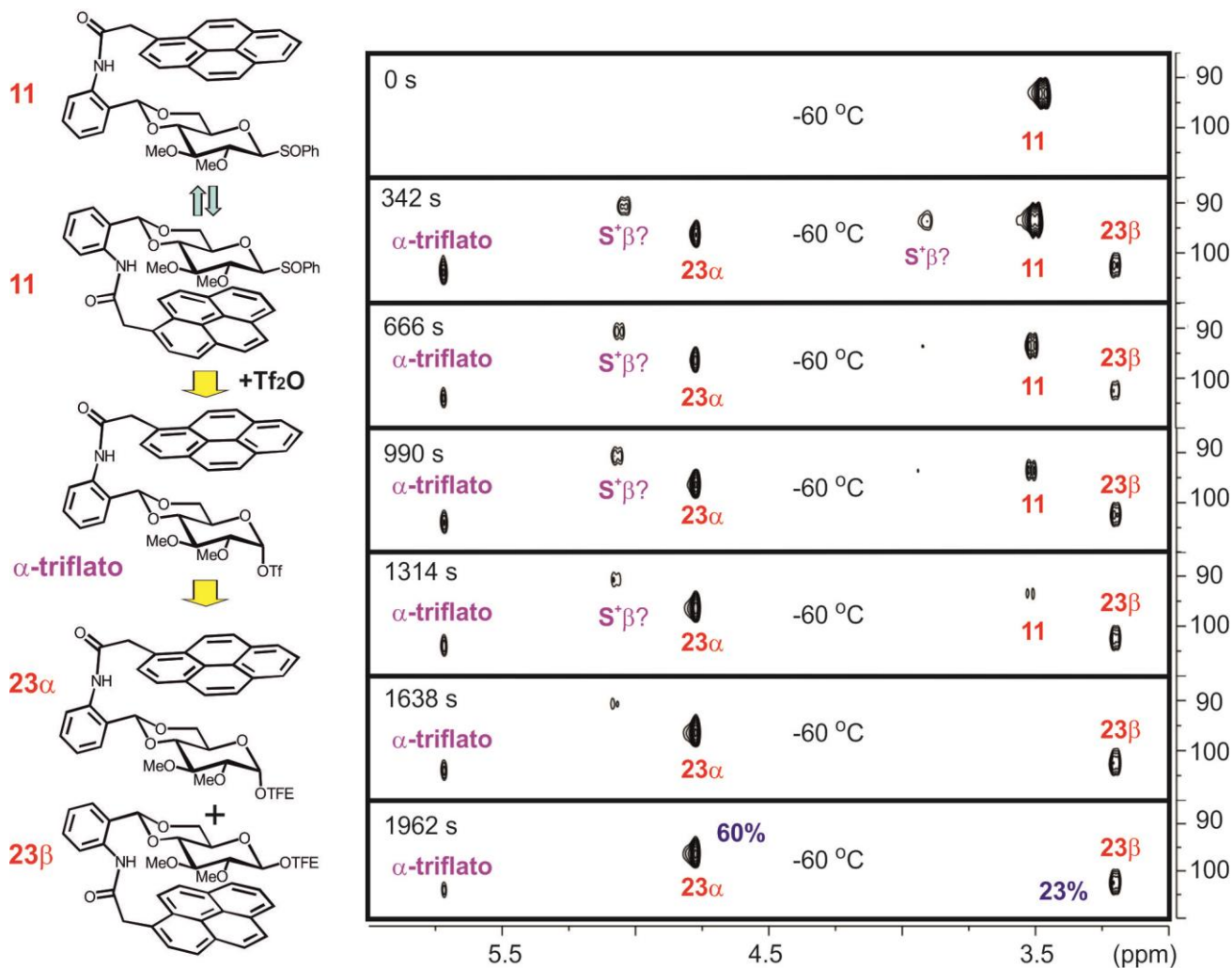


Figura 3.32.- Reacción de glicosilación realizada con el derivado **11** a -60 °C, empleando 5 equivalentes de especie aceptora (TFE). Se muestran regiones representativas de los espectros de HSQC adquiridos a diferentes tiempos de reacción.

Adicionalmente, gracias al marcaje isotópico, pudimos identificar diferencias de reactividad adicionales entre los derivados de glucosa con (**11**) (Figura 3.32) y sin pireno (**14** y **15**) (Figura 3.33). Así, en el caso del derivado **11**, se observó que la reacción de glicosilación transcurría con una acumulación sustancial de tres intermedios de carácter transitorio: α -triflato de glicosilo y otros dos no identificados (nombrados como $\text{S}^+\beta$ en la Figura 3.32) cuyos

desplazamientos químicos de ^{13}C anoméricos y constantes de acoplamiento heteronucleares $^1\text{J}_{\text{C1-H1}}$ (168Hz), parecen apuntar a especies activadas tipo sulfonio (Figura 3.32).¹¹⁷

Por el contrario, en las mismas condiciones de reacción, los derivados de referencia (**14** y **15**) mostraron una evolución mucho más limpia, sin intermedios detectables (Figura 3.33). La acumulación de intermedios observada en el caso de **11** podría, en principio, explicarse apelando a un incremento en la velocidad de activación del donador.

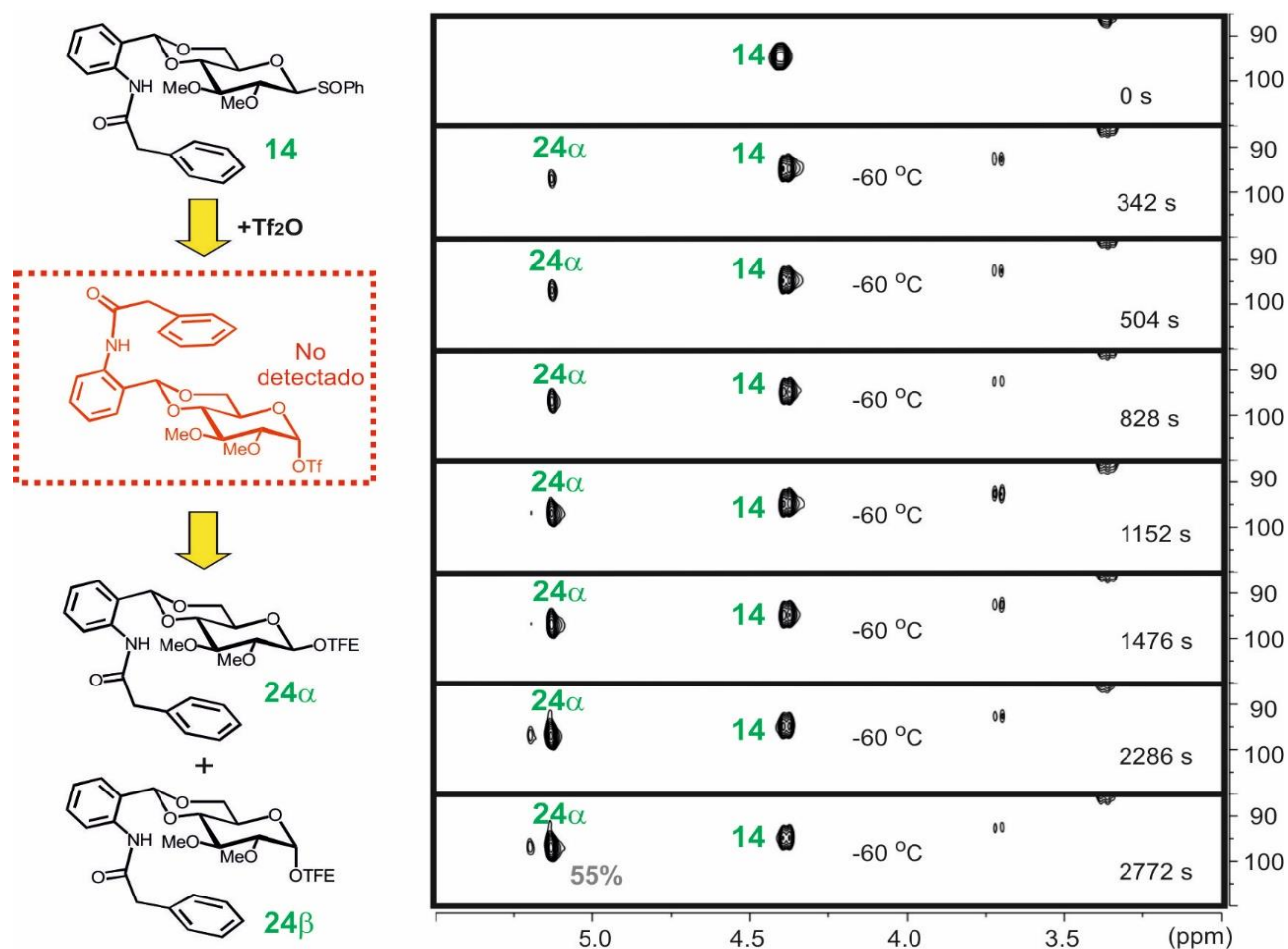


Figura 3.33.- Reacción de glicosilación realizada con el derivado **14** a $-60\text{ }^\circ\text{C}$, empleando 5 equivalentes de especie aceptora (TFE). Se muestran regiones representativas de los espectros HSQC adquiridos a diferentes tiempos de reacción.

Cabe mencionar que los resultados y observaciones expuestos con anterioridad son fundamentalmente independientes de la quiralidad de los sulfóxidos empleados en los ensayos. A modo de ejemplo, en la Figuras 3.34 y 3.35 se muestran las reacciones de glicosilación individuales llevadas a cabo con

los compuestos **11** y **14** empleando los sulfóxidos de quiralidad opuesta (denominados de un modo genérico sulfóxidos 2 por su mayor retención en columna cromatográfica de sílica) y condiciones idénticas a las anteriormente expuestas para los sulfóxidos 1 (Figuras 3.32 y 3.33) Puede apreciarse como, tal y como se describió con anterioridad, la presencia del pireno promueve una mayor velocidad en la activación del donador, que tiene su reflejo tanto en la desaparición acelerada del producto de partida, como en la mayor acumulación de triflato intermedio.

Nuevamente, la reacción procede con total estereoselectividad en el sistema de referencia. Por el contrario, el sistema pirénico incrementa sustancialmente la velocidad de formación del producto de glicosilación β , lo que determina una reducción significativa en la estereoselectividad del proceso.

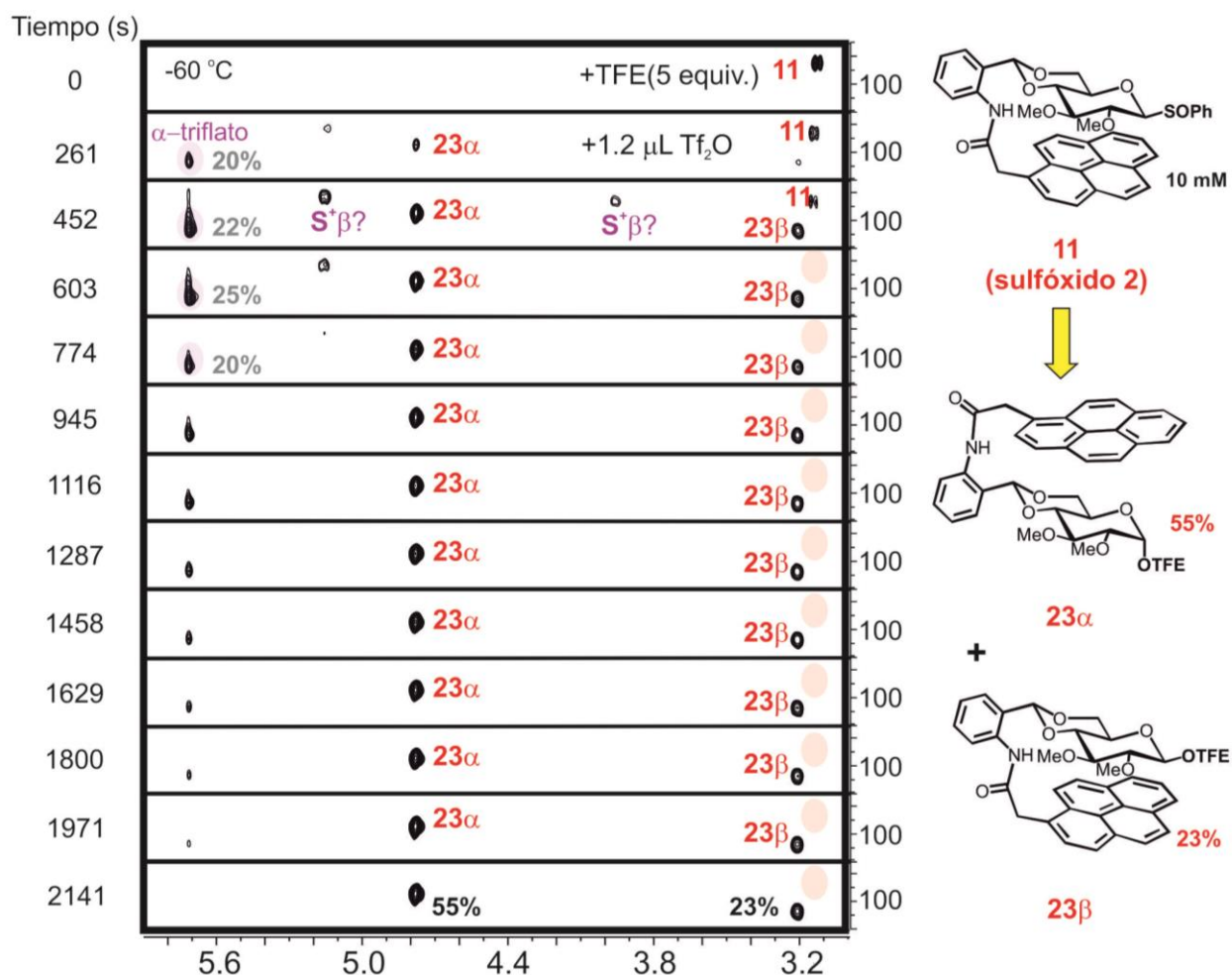


Figura 3.34.- Ensayos de reactividad realizados con sulfóxidos de quiralidad opuesta (referidos aquí como sulfóxidos 2). Evolución temporal del derivado **11** (10 mM) etiquetado con ^{13}C en presencia de TFE (5 equiv.) Y DTBMP (3 equiv.) tras la adición de Tf_2O (1.5 equiv.) a -60 °C.

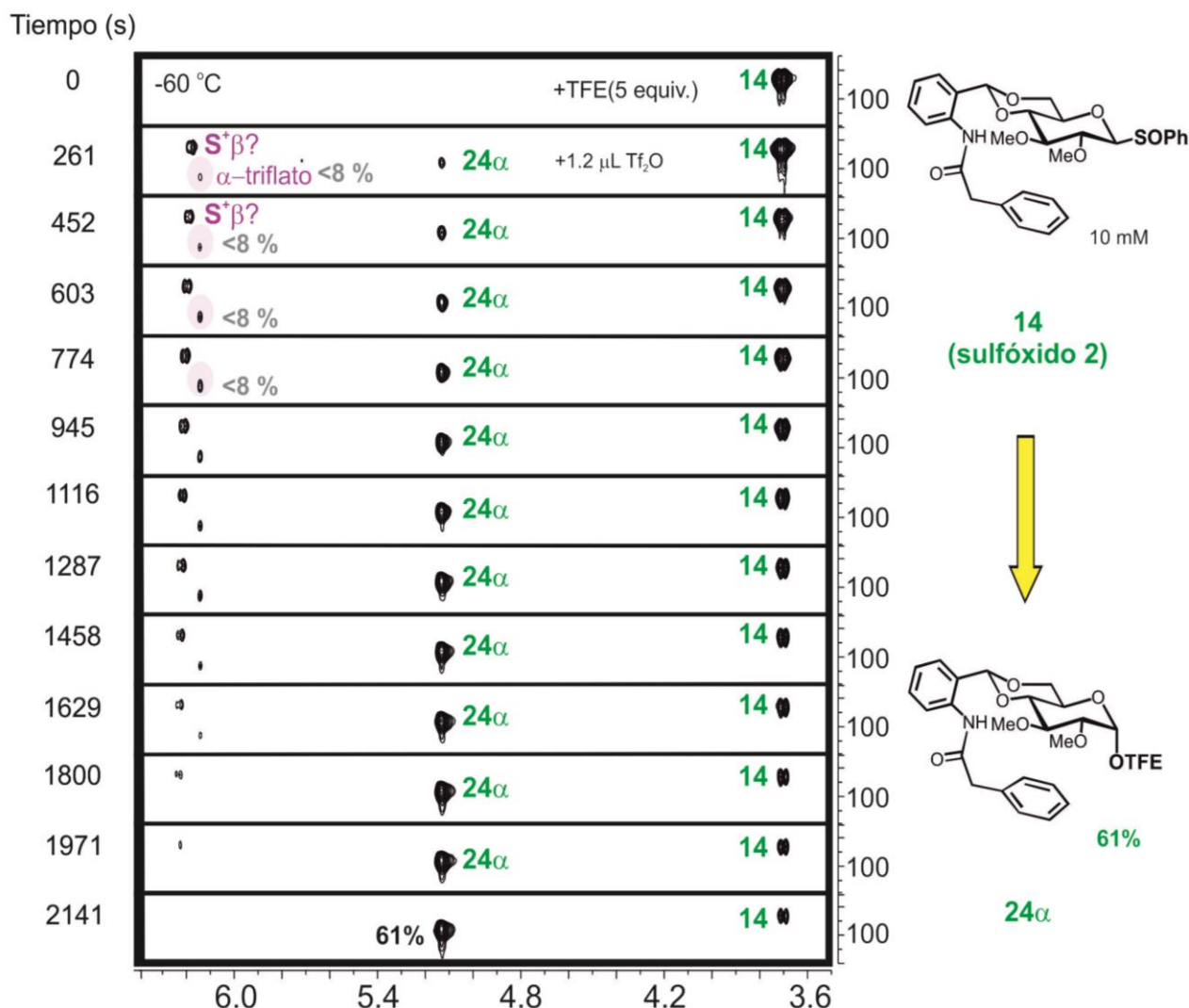


Figura 3.35.- Ensayos de reactividad con sulfóxidos de quiralidad opuesta (referidos aquí como sulfóxidos 2). Evolución temporal del derivado **14** (10 mM, derecha) etiquetado con ¹³C en presencia de TFE (8 equiv.) Y DTBMP (3 equiv.) tras la adición de Tf₂O (1.5 equiv.) A -60 °C.

Al igual que en la sección anterior, y con el objetivo de obtener información relativa a las velocidades iniciales de formación de cada derivado glicosilado, se llevaron a cabo experimentos de competición por pares con los modelos **11** y **14** marcados en ¹³C. Tanto los ensayos realizados de forma individual como los experimentos de competición revelaron que, en presencia de la plataforma aromática, la velocidad inicial de formación del anómero α se incrementa marginalmente (x1.1), mientras que la del anómero β, aumenta significativamente (>10). (Figura 3.36). Esta observación experimental, resulta plenamente consistente con la degradación detectada en la estereoselectividad.

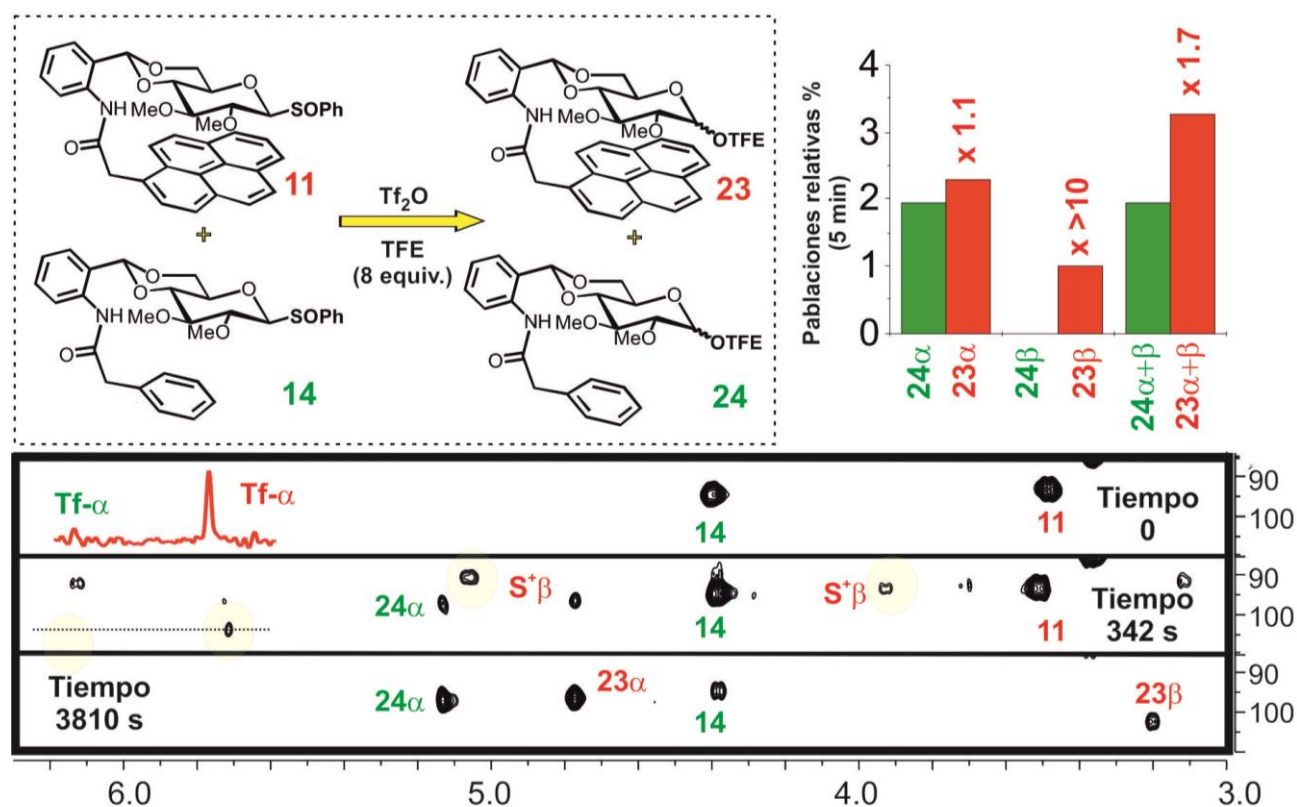


Figura 3.36.- Experimentos de competición realizados con mezclas equimoleculares **11/14** a -60°C . Se muestran regiones representativas de los espectros de HSQC adquiridos a diferentes tiempos de reacción. Las poblaciones relativas estimadas para los productos de glicosilación **23** α/β y **24** α/β se representan como diagrama de barras en la parte superior-derecha de la figura.

Al igual que en las reacciones individuales anteriormente citadas, dichos ensayos revelaron una mayor acumulación de especies intermedias formadas a partir del compuesto **11**. Este hecho sugiere que su formación podría verse acelerada por el apilamiento entre el carbohidrato y el anillo aromático.

Con el fin de comprobar esta hipótesis se realizaron diversos experimentos adicionales. El primero de ellos consistió en llevar a cabo una reacción de glicosilación con pre-activación, empleando una mezcla equimolecular de los donadores **11:15** en el tubo de RMN y dejando un tiempo reducido para la formación de los triflatos intermedios. Para ello se disolvió en CDCl_3 una mezcla 1:1 de los derivados **11** y **15** junto con la base (DTBMP, 6 equiv.). La disolución se enfrió a -60°C , preactivando los donadores mediante la adición de Tf_2O ($1.2\ \mu\text{L}$). Pasados 3 minutos, se agregó un gran exceso de la especie aceptora (CD_3OD , $25\ \mu\text{L}$) y se mantuvo a -60°C otros dos minutos adicionales. Por último, se calentó a -30°C y se detuvo la reacción con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 .

Cabe mencionar que dado el breve intervalo de tiempo permitido para la generación de los triflatos intermedios (3 min) y el fuerte exceso de aceptor empleado, la conversión observada en cada caso debe reflejar, de modo fundamental la cinética del proceso de activación. De acuerdo con nuestra hipótesis de partida, el análisis espectroscópico de la mezcla final de reacción reveló un grado de evolución significativamente mayor para el compuesto **11**. Así, mientras los productos de glicosilación derivados de este se obtienen con un rendimiento próximo al 40 %, aquellos provenientes del derivado **15** son apenas detectables (Figura 3.37). Este resultado resulta consistente con una cinética de activación significativamente más alta para el derivado equipado con la unidad de pireno.

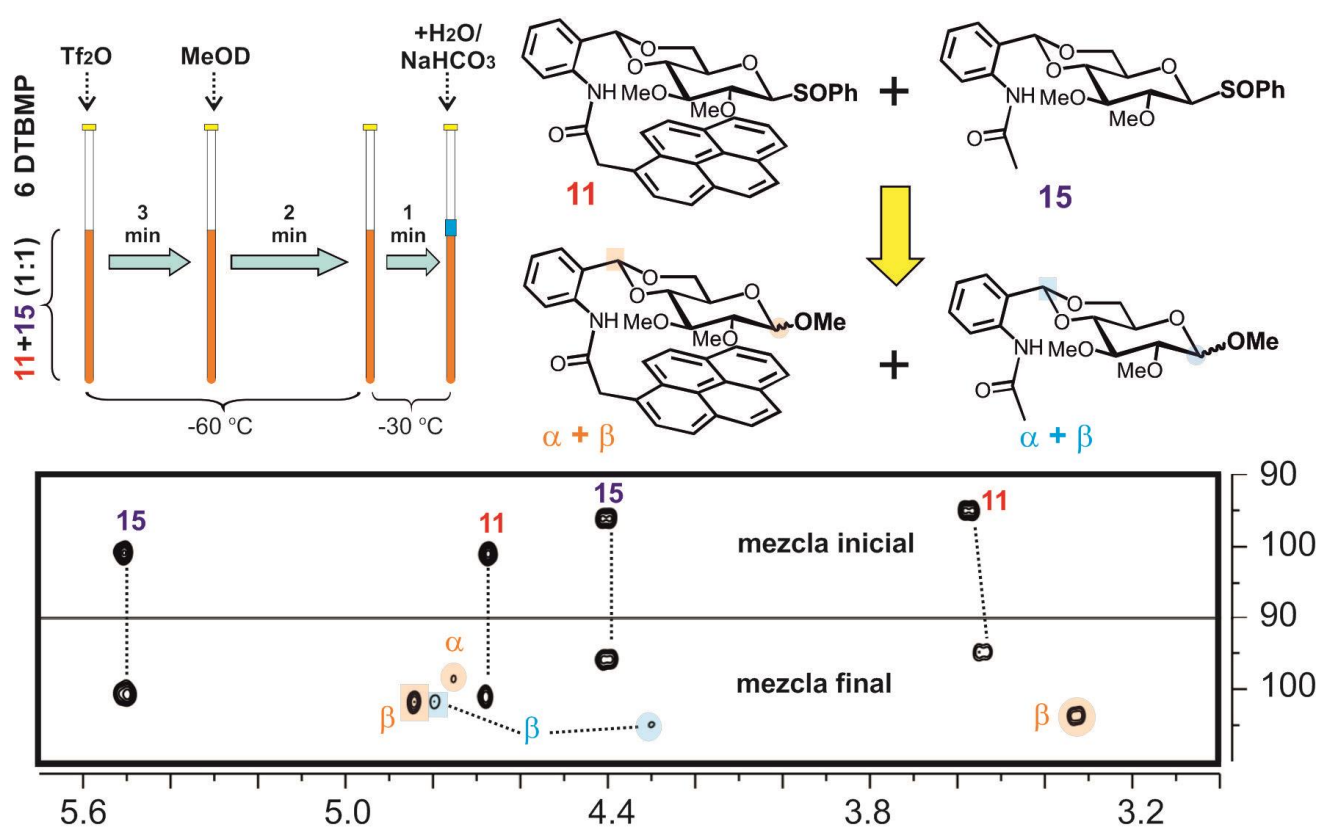


Figura 3.37.- Experimentos de competición en dos pasos realizados con mezclas equimoleculares de los derivados de glucosa **11** y **15**, empleando tiempos cortos (3 min) para la pre-activación. Espectros HSQC (región anomérica) adquiridos con las mezclas de reacción inicial y final.

Con objeto de comprobar de modo directo esta conclusión realizamos experimentos de competición adicionales empleando mezclas equimoleculares de los derivados **11/15** y **11/14**, marcados isotópicamente. En esta ocasión nuestro propósito es estimar de modo directo las velocidades relativas de formación de triflatos.

Para ello se realizaron experimentos de pre-activación empleando mezclas equimolares de los derivados **11/15** y **11/14**, tanto marcados isotópicamente como sin marcar. Dichas reacciones fueron monitorizadas mediante experimentos bidimensionales HSQC para los compuestos etiquetados y mediante experimentos 1D ^1H -RMN en el resto de los casos (Figura 3.38).

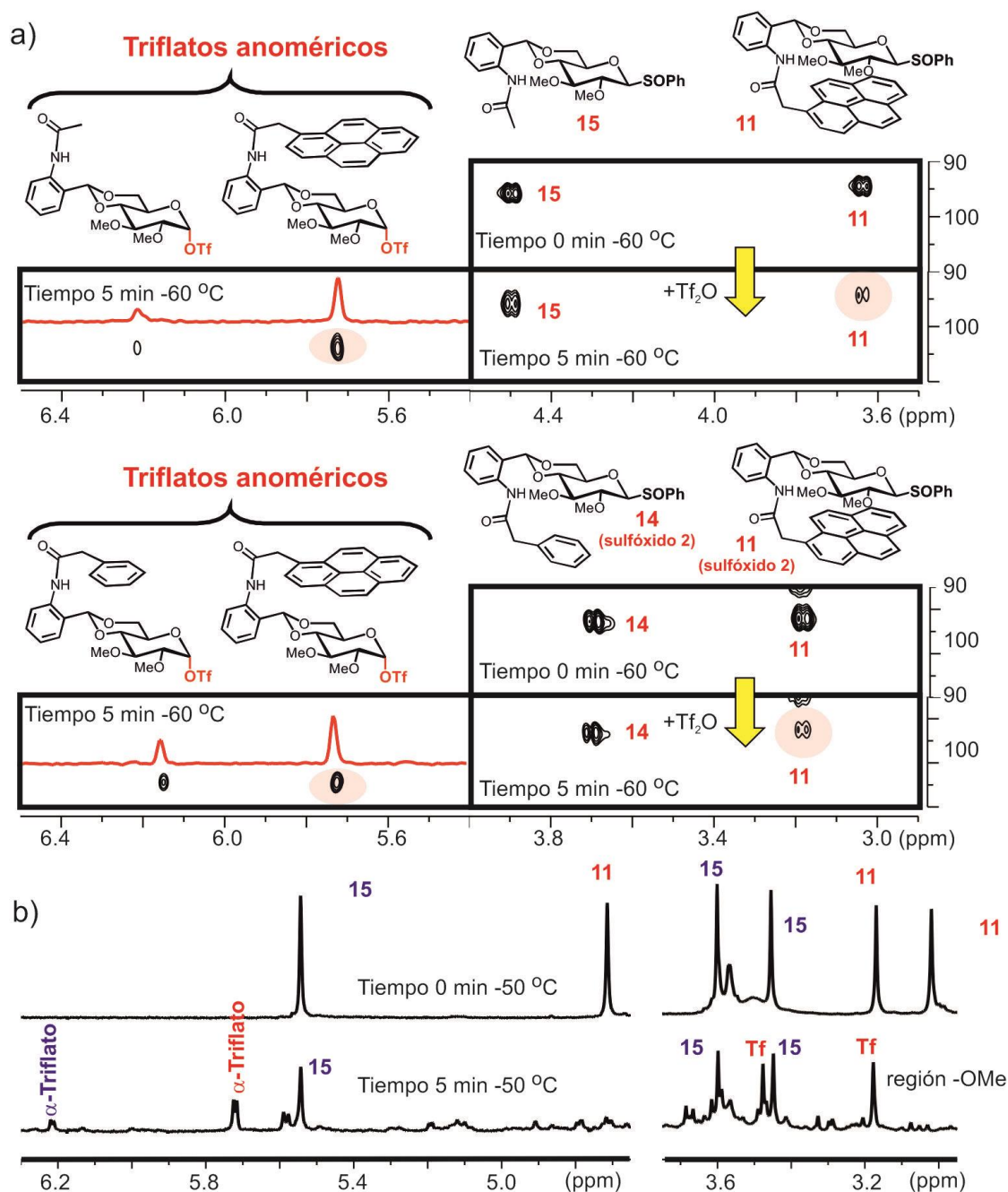


Figura 3.38.- Experimentos de pre-activación de competición (a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) empleando mezclas equimolares de los derivados **11/15** y **11/14** a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, monitorizados mediante espectros 2D-HSQC (a) o 1D (b). En todos los casos se muestran regiones anoméricas representativas correspondientes a las mezclas iniciales y 5 min después de la activación.

Los resultados obtenidos revelaron, de forma consistente, una consumición acelerada del producto de partida en el donador equipado con el sistema pirénico (**11**), así como una formación del α -triflato correspondiente significativamente más rápida, independientemente de la quiralidad del sulfóxido empleado (Figura 3.38).

En definitiva, los ensayos realizados confirman que la presencia de la plataforma aromática facilita la activación del donador promoviendo una formación de triflatos intermedios más rápida. Esta observación resulta consistente con la existencia, para esta etapa de la reacción, de un estado de transición dotado de un carácter catiónico significativo.

3.3.2.3.- Estudio de reactividad de los derivados de 2-desoxiglucosa **16** y **17**.

Los derivados de 2-desoxiglucosa fueron seleccionados como modelos por carecer de un sustituyente atractor de electrones en posición contigua al centro anomérico. Esta característica les confiere una mayor propensión a evolucionar a través de estados de transición catiónicos. Dicha propiedad podría, en principio, garantizar sustituciones tipo S_N1 , incluso en aquellos casos en los que el alcohol empleado reviste cierto carácter nucleófilo (en contraste con el TFE). En consecuencia, para el análisis de reactividad de dichos modelos, decidimos incorporar monofluoroetanol (MFE) como aceptor adicional.

Con el fin de estimar la influencia ejercida por la plataforma de pireno en este tipo de sistemas, se llevaron a cabo, en primer lugar, experimentos de glicosilación con los derivados **16** y **17** de manera individual, tanto empleando muestras marcadas en ^{13}C como sin marcar. Dichas reacciones fueron realizadas a $-65\text{ }^{\circ}C$ con dos aceptores de diferente nucleofilia (MFE y TFE). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 3.39. Como primera observación relevante, cabe destacar que las glicosilaciones realizadas con los modelos 2-desoxi marcados isotópicamente mostraron, en todos los casos, una evolución limpia de reactivos a productos, sin intermedios detectables. Este hecho, parece consistente con la mayor reactividad esperada para dichos modelos y las posibles especies transitorias involucradas.

Como segundo punto, los rendimientos de glicosilación, independientemente del aceptor empleado (MFE o TFE), mejoraron en presencia del pireno. En tercer lugar, la estereoselectividad del proceso, ya marginal para el

compuesto de referencia **17** (α/β 2:1 con TFE y 1:2 con MFE), se eliminó por completo en el caso de **16** (α/β 1:1 para ambos alcoholes).

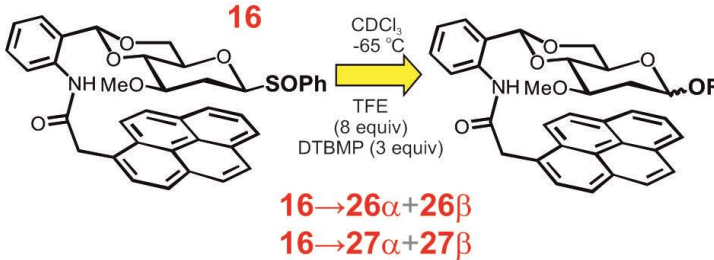
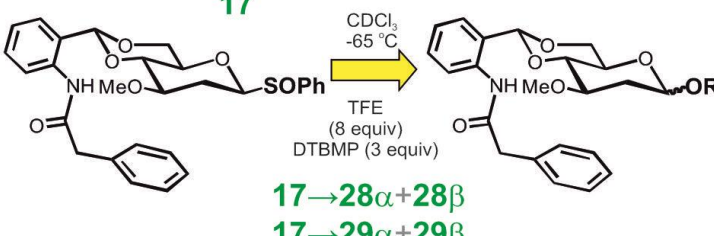
	R = TFE	R = MFE
 <p>16 $\xrightarrow[\text{DTBMP (3 equiv)}]{\text{CDCl}_3, -65^\circ\text{C}, \text{TFE (8 equiv)}}$ 26 + 27</p> <p>16 \rightarrow 26α + 26β 16 \rightarrow 27α + 27β</p>	<p>16 \rightarrow 26α + 26β 97% $\alpha:\beta$ 1.0:1.0</p>	<p>16 \rightarrow 27α + 27β 80% $\alpha:\beta$ 1.0:1.0</p>
 <p>17 $\xrightarrow[\text{DTBMP (3 equiv)}]{\text{CDCl}_3, -65^\circ\text{C}, \text{TFE (8 equiv)}}$ 28 + 29</p> <p>17 \rightarrow 28α + 28β 17 \rightarrow 29α + 29β</p>	<p>17 \rightarrow 28α + 28β 87% $\alpha:\beta$ 2.0:1.0</p>	<p>17 \rightarrow 29α + 29β 64% $\alpha:\beta$ 1.0:2.0</p>

Figura 3.39.- Reacciones de glicosilación individuales realizadas con los derivados **16** y **17**, empleando TFE o MFE como especies aceptoras. Rendimientos y estereoselectividades.

Adicionalmente, se realizaron experimentos de competición por pares (**16/17**) a -65°C con ambos aceptores (MFE y TFE). En este caso, con objeto de monitorizar el progreso de la glicosilación mediante experimentos 2D-HSQC, se recurrió a las muestras marcadas en ^{13}C (Figura 3.39)

Los datos obtenidos indican que, independientemente de la naturaleza de la especie aceptor, el sistema pirénico promueve un incremento en la velocidad de formación de los dos productos de glicosilación (α y β) que, sin embargo, es significativamente más acentuada para el estereómero minoritario. Este efecto explica la pérdida de estereoselectividad observada en todos los casos.

Así, mientras que en el caso de las reacciones realizadas con TFE se acelera de forma preferente la formación del producto glicosilado β (**26** β vs **28** β), en aquellas realizadas con MFE se aprecia un efecto comparable, pero sobre el anomero α . (**27** α vs **29** α).

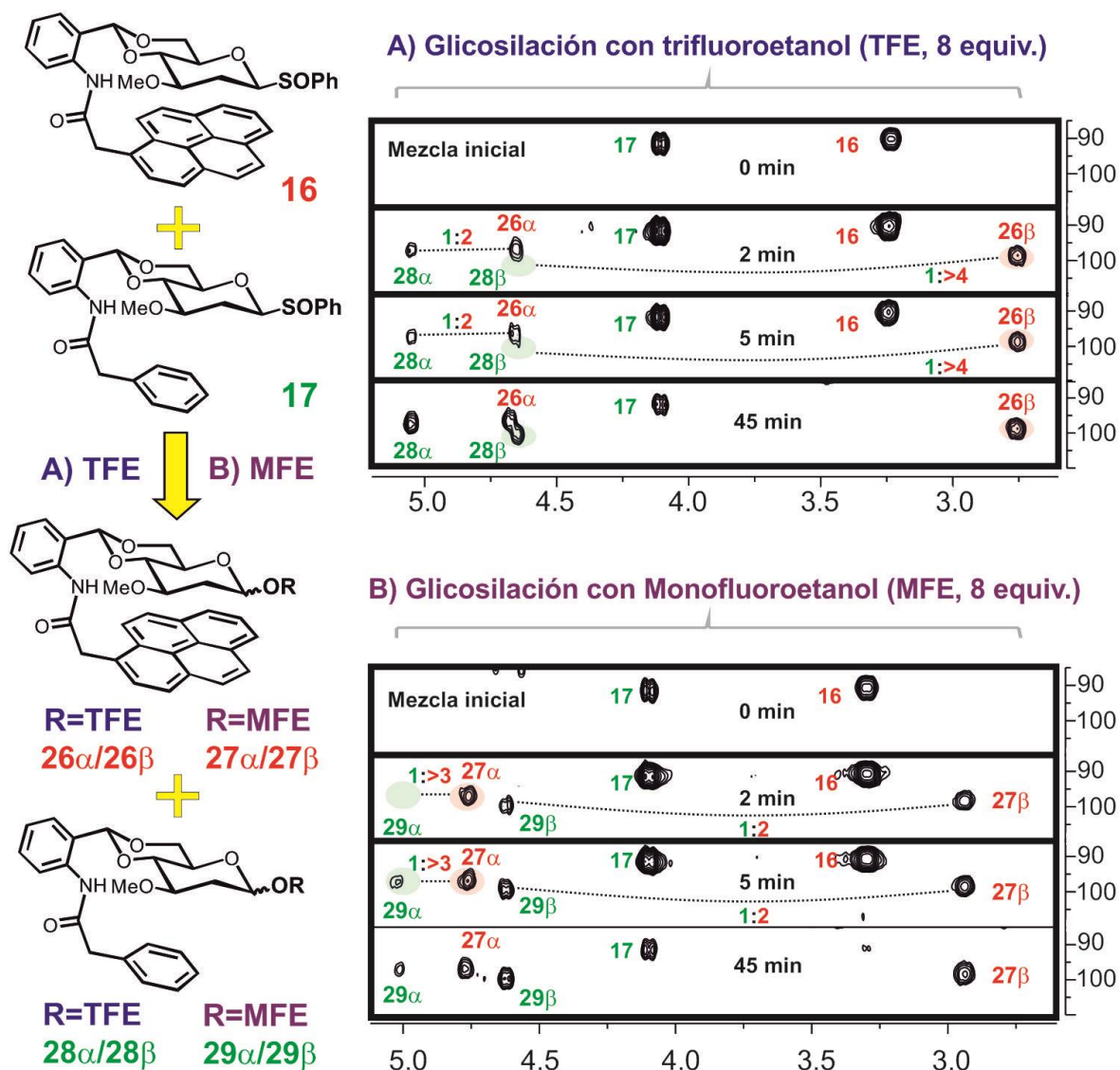


Figura 3.40.- Experimentos de competición por pares realizados con los derivados **16** y **17** marcados en ^{13}C a $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$, empleando TFE (arriba) y MFE (abajo) como especies aceptoras. La evolución temporal de las mezclas de reacción se monitorizó a diferentes tiempos mediante espectros 2D-HSQC (se indican la relación de intensidad para los picos anoméricos correspondientes a los productos de reacción).

A la vista de la razonable dispersión que las señales de protón que reactivos y productos presentan en los espectros ^1H -RMN, decidimos realizar experimentos cinéticos adicionales empleando los derivados **16** y **17**, de forma individual, y TFE como especie aceptora. En esta ocasión, las reacciones se monitorizaron mediante experimentos 1D ^1H -RMN secuenciales. Esto tiene como ventaja el proporcionar una mayor resolución temporal y, adicionalmente

permitir una integración más precisa de las señales correspondientes a reactivos y productos.

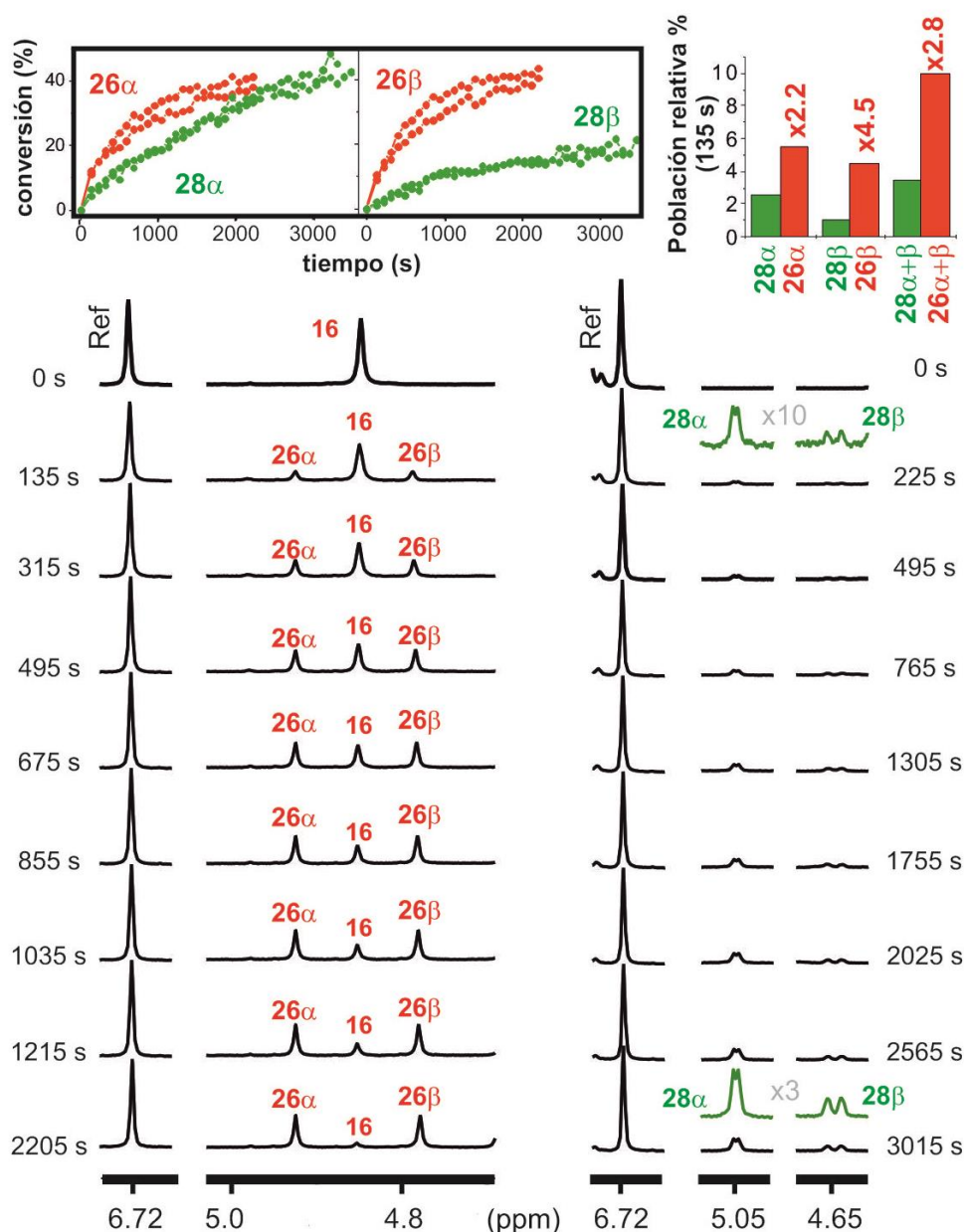


Figura 3.41.- Cinética de glicosilación observada para los derivados **16** y **17** empleando TFE como especie aceptora a -65 °C. Las curvas de crecimiento derivadas para los productos de reacción a partir de los experimentos de RMN se muestran en la parte superior. Las poblaciones relativas de los productos de glicosilación a tiempos cortos de reacción (proporcionales a sus velocidades respectivas de formación) se representan en el ángulo superior derecho.

La evolución temporal de las mezclas de reacción se muestra en la Figura 3.41, junto con las curvas cinéticas derivadas para la formación de los productos de glicosilación. Las velocidades de formación iniciales estimadas para los

mismos se representan en un gráfico de barras. Los datos obtenidos indican que en presencia del sistema pirénico, la velocidad de formación del anómero α se duplica con respecto a la observada en el sistema de referencia (ver **26 α** vs **28 α**). Para el anómero β el incremento en la velocidad de formación promovido por el apilamiento carbohidrato/aromático es todavía más claro, alcanzando un factor de 4 veces (ver **26 β** vs **28 β**). Esto conlleva una igualación en las velocidades de formación de los dos estereómeros, lo que explica la pérdida de estereoselectividad del proceso. De un modo global puede concluirse que en presencia del sistema pirénico, los productos ($\alpha+\beta$) de glicosilación triplican su velocidad de formación.

3.3.2.4.- Estudio de reactividad de los derivados de 2-desoxiglucosa tipo “Sandwich” **18** y **19**.

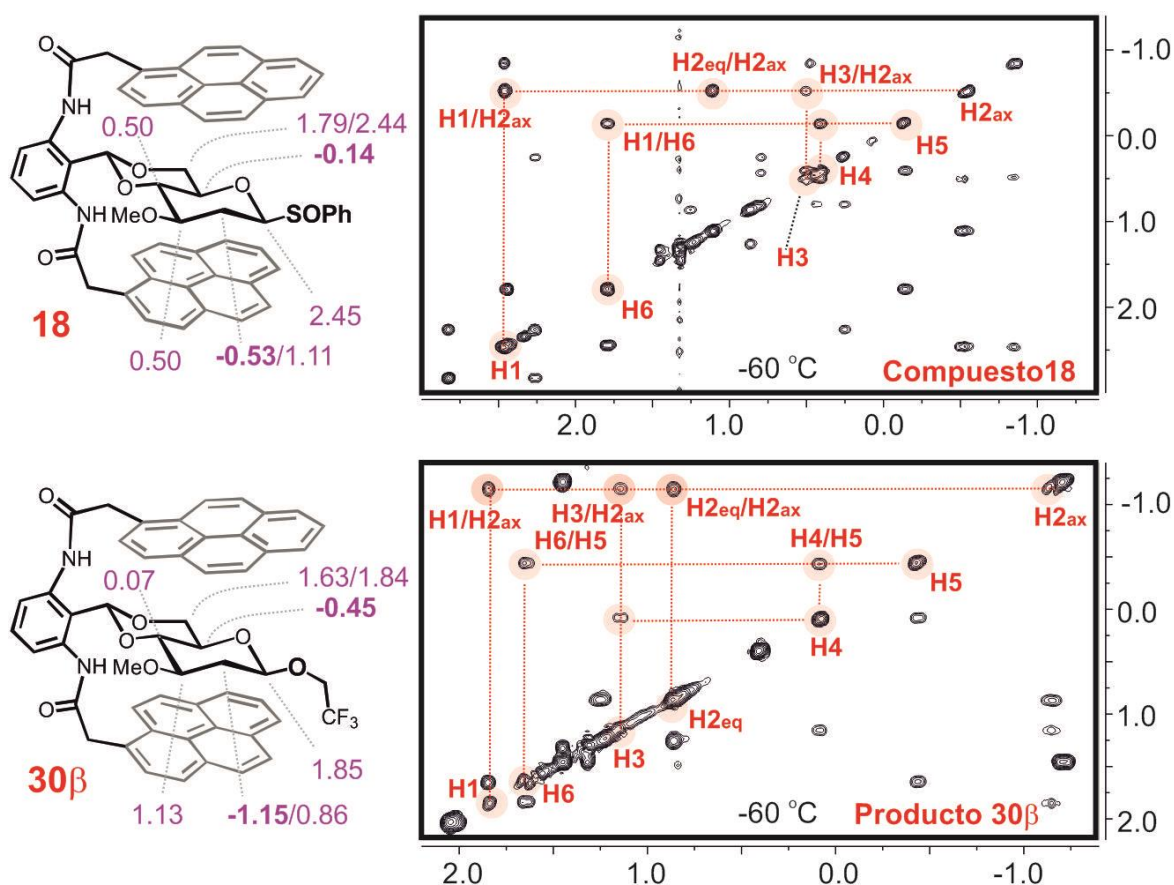


Figura 3.42.- Desplazamientos químicos observados en el derivado **18** y en el producto de glicosilación **30 β** a -65 °C derivados de experimentos TOCSY (mostrados a la derecha). El doble apilamiento se traduce, en ambos casos, en un fuerte apantallamiento de las señales de protón, algunos de los cuales presentan desplazamientos químicos negativos.

Como paso final en nuestro estudio se analizó la reactividad del derivado **18** y su correspondiente sistema de referencia **19**. Dicho modelo fue diseñado para maximizar la influencia estabilizadora de los anillos aromáticos sobre posibles estados de transición cargados.

Para nuestra satisfacción, tanto el derivado **18** como sus correspondientes productos de glicosilación, **30 α /30 β** indujeron un apantallamiento en las señales de protón sin precedentes en el campo de los carbohidratos, con señales de ^1H -RMN a desplazamientos químicos negativos de hasta $\delta_{\text{H}} = -1.3$ ppm. (Figura 3.42).

Cabe destacar, que las simulaciones de dinámica molecular (MD) revelaron que este efecto se debe a la influencia aditiva de ambas plataformas aromáticas, no implicando necesariamente una geometría más rígida o apretada del complejo CH/ π (figura 3.43).

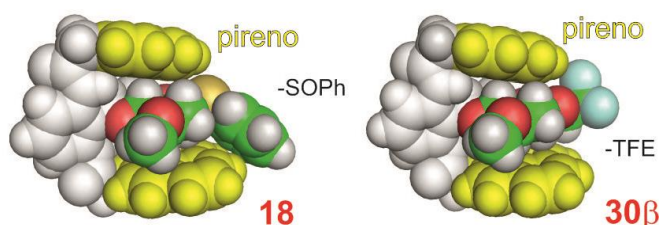


Figura 3.43.- Modelos CPK para las conformaciones más relevantes de los derivados **18** y **30 β** .

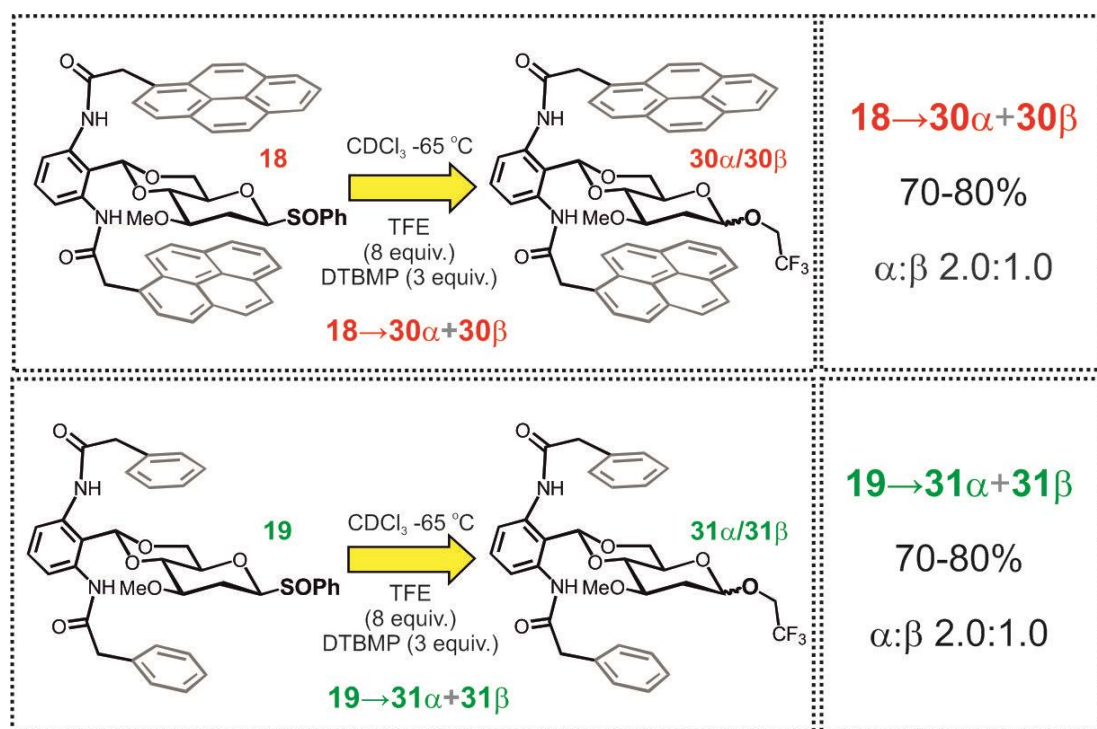


Figura 3.44.- Rendimientos y estereoselectividades obtenidas en las reacciones de glicosilación con TFE a baja temperatura llevadas a cabo con los compuestos **18** (arriba) y **19** (abajo).

Con el fin de estimar la influencia ejercida por la plataforma de pireno sobre la reactividad del donador, se llevaron a cabo glicosilaciones de manera individual, a $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$, empleando TFE como aceptor (Figura 3.44). Estas reacciones dieron lugar a los productos glicosilados (**30** α/β y **31** α/β) con rendimientos (en el rango de 70-80 %) e idénticas estereoselectividades.

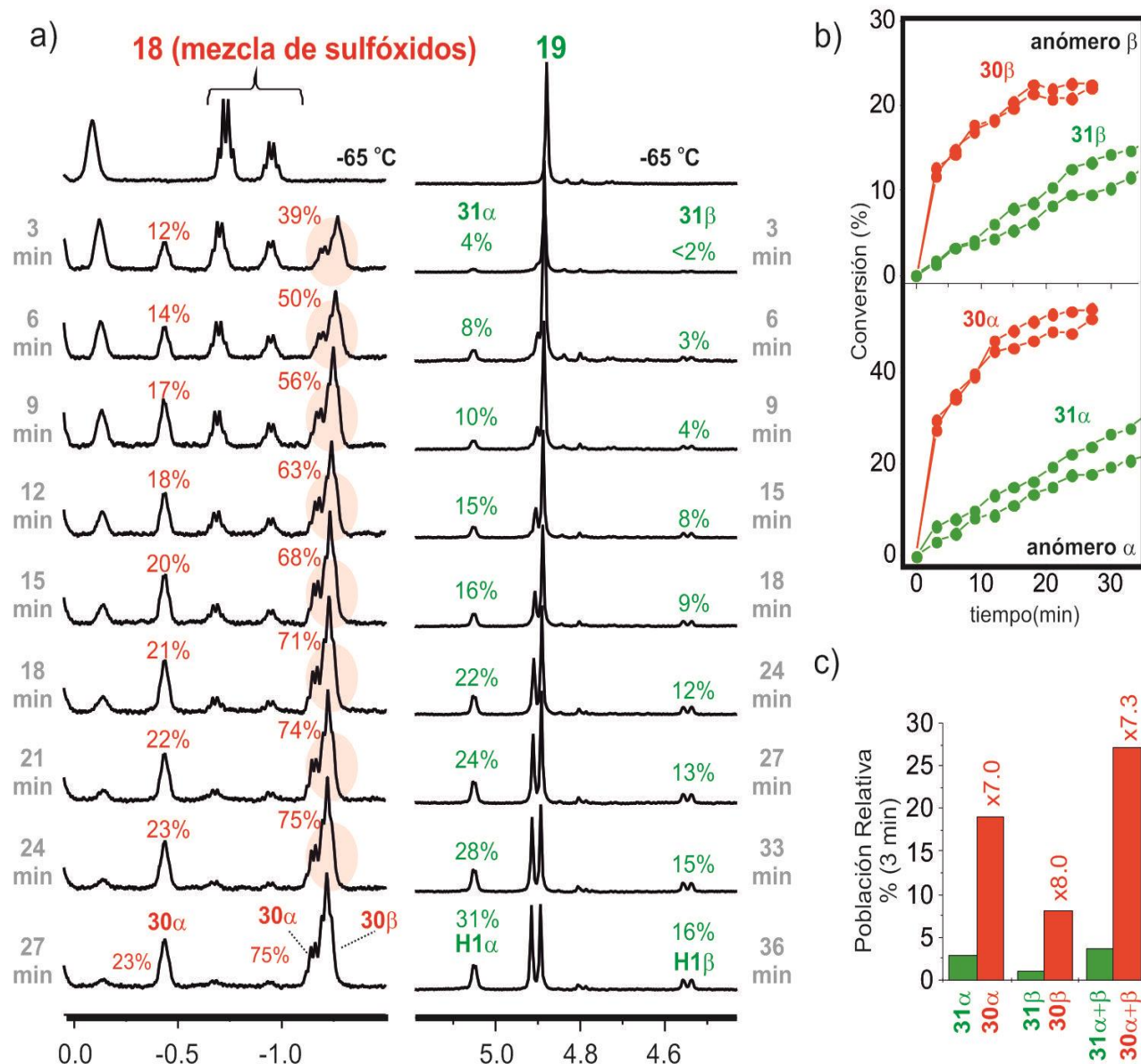


Figura 3.45.- a) Monitorización mediante RMN de las reacciones de glicosilación realizadas con los donadores **18** y **19** a $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$, empleando TFE como aceptor. b) Curvas cinéticas obtenidas para la formación de los productos de glicosilación **30** y **31**. Se representan los resultados de dos experimentos independientes. c) Velocidades de formación relativas, deducidas para los productos de glicosilación **30** y **31**, a partir de sus concentraciones a tiempos cortos de reacción.

A continuación, con objeto de estimar la influencia ejercida por la plataforma de pireno sobre la cinética de la reacción, se llevaron a cabo reacciones adicionales. Dichas glicosilaciones fueron realizadas por triplicado y monitorizadas a diferentes tiempos de reacción (para cada derivado) mediante experimentos monodimensionales de ^1H -RMN. (Figura 3.45). Los datos obtenidos demuestran, de modo concluyente, una aceleración significativa del proceso en **18** promovida por las plataformas de pireno. Así, a los tres minutos (el tiempo más corto de reacción que pudo monitorizarse por RMN con una relación señal ruido adecuada) se aprecia una formación total de productos **30 α** +**30 β** próxima al 40 %. Por el contrario, para el compuesto de referencia la conversión se sitúa en torno al 5 %. (ver Figura 3.45 b y c). De acuerdo con estos resultados, la presencia de plataformas aromáticas en las proximidades del centro reactivo determina en este caso un incremento en la velocidad de glicosilación de aproximadamente 7 veces.

Resumen de los resultados más relevantes obtenidos con modelos tipo II.

En resumen, de acuerdo con los datos espectroscópicos y las simulaciones de dinámica molecular, los compuestos pertenecientes a la familia tipo II, presentan enlaces CH/ π más débiles y dinámicos en el estado fundamental que los de la familia tipo I. Esta característica acompañada de la menor capacidad de distorsión de la piranosa reactiva (restringida conformacionalmente por medio de un grupo benzilideno en posiciones 4 y 6) determina un comportamiento completamente distinto.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto varias tendencias clave:

1) Los donadores de manosa y glucosa ensayados dan reacciones de glicosilación con formación de intermedios tipo triflato con estereoquímica α . La formación de dichas especies desde **10** y **11**, implica en ambos casos una reubicación del sistema pirénico que debe adoptar una disposición lateral en manosa y un apilamiento por la cara β en glucosa. A pesar de la sensibilidad extra proporcionada por los modelos marcados en ^{13}C , en ningún caso se detecta la presencia de triflatos con estereoquímica β . Cabe mencionar que, especialmente en el caso de la manosa, dichas especies se verían estabilizadas de modo preferente mediante la formación de un complejo carbohidrato/aromático por la

cara α de la piranosa. Los datos obtenidos indican que dicha estabilización es insuficiente para hacer la población de triflatos β detectable.

2) En el caso del donador de glucosa **11**, la presencia del sistema pirénico facilita el proceso de activación, promoviendo una formación acelerada del α -triflato intermedio. Dicha observación es consistente con la existencia de un estado de transición con desarrollo significativo de carga positiva para este paso de reacción.

3) En el caso de los donadores de 2-desoxiglucosa, la reacción evoluciona limpiamente de reactivos a productos sin acumulación detectable de especies intermedias. Esta observación está de acuerdo con la reactividad extrema comúnmente atribuida a los triflatos de glicosilo desoxigenados en posición 2.

4) En todos los casos, las unidades de pireno tienen un impacto nulo o negativo en la estereoselectividad de las reacciones de glicosilación. En aquellos casos en los que la estereoselectividad disminuye, dicha degradación obedece siempre a un mismo efecto; el sistema pirénico acelera de forma preponderante la formación del estereómero minoritario. Dicha observación resulta sorprendente y apunta a un cambio de mecanismo (ver discusión en el apartado 3.4).

5) Se aprecian incrementos significativos en las velocidades de glicosilación sólo para los modelos de 2-desoxiglucosa. Este comportamiento es consistente con el mayor carácter disociativo (S_N1) normalmente atribuido a las reacciones en las que intervienen dichas especies donadoras. De acuerdo con nuestros datos, la carga positiva adquirida por la unidad de piranosa en el estado de transición es estabilizada electrostáticamente por el cuadrupolo eléctrico de los sistemas pirénicos. Este constituye el primer ejemplo descrito en la literatura de interacción catión/ π que involucra un estado de transición tipo glicosil oxocarbenio y determina una aceleración en la glicosilación.

3.3.3.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Los resultados descritos en las secciones 3.3.1 y 3.3.2 para los modelos tipo I y II revelan un comportamiento sorprendente, de acuerdo con el cual el sistema pirénico parece ejercer un gradiente de efectos sobre la reactividad de las unidades donadoras. Dichas influencias, se resumen en la Figura 3.46 y 3.47 y van desde inhibiciones significativas de la reactividad a incrementos moderados en las velocidades de reacción. Los datos obtenidos pueden entenderse de un modo global si consideramos las fuerzas fundamentales que estabilizan los complejos carbohidrato/aromático y cómo estas evolucionan durante el curso de la reacción. Así, por un lado, el desarrollo de carga positiva en el centro anomérico debe potenciar las interacciones electrostáticas atractivas presentes entre la unidad de piranosa y el cuadrupolo eléctrico propio del sistema de pireno. Este efecto debe ser especialmente significativo para estados de transición altamente disociativos (tipo S_N1) y en medios de baja constante dieléctrica. Por otro lado, a medida que se produce la salida del sustituyente anomérico, la unidad de piranosa se distorsiona. En el escenario más sencillo concebible debe producirse una rehibridación del centro anomérico de sp^3 a sp^2 , lo cual implica que la complementariedad de formas entre el carbohidrato y el sistema aromático, óptima para una silla 4C_1 , se reduce. De hecho, dicha rehibridación, en sí misma, tiene como consecuencia la pérdida de un enlace CH/π . Es preciso subrayar que para piranosas no restringidas son concebibles transiciones conformacionales más drásticas lo cual implicaría un deterioro mayor de las contribuciones de Van der Waals a la estabilidad de los complejos. De acuerdo con esto, la influencia neta que el apilamiento aromático tiene sobre la reactividad del donador parece depender de un delicado balance entre dos contribuciones energéticas; la electrostática, que favorece la reacción, y la de van der Waals, que se opone a ella.

Por lo que respecta a los sistemas modelo tipo I, estos incluyen una unidad de carbohidrato no restringida conformacionalmente, que participa en interacciones CH/π fuertes con la unidad de pireno. Las disminuciones de reactividad observadas (Figura 3.46), en todos los casos, parecen sugerir que el debilitamiento de las interacciones de Van der Waals en el estado de transición no es compensado por el fortalecimiento de las interacciones electrostáticas. De hecho, ambas contribuciones parecen óptimas en los intermedios activados (protonados) lo que determina un incremento en la energía de activación. Esta visión está de acuerdo con los datos de experimentales de desplazamiento

químico que muestran un fortalecimiento significativo del complejo carbohidrato/aromático en presencia de ácido trifílico. A su vez, está apoyada por cálculos de dinámica molecular, de acuerdo con los cuales la protonación del sustituyente anomérico potencia los enlaces CH/ π , determinando un complejo más rígido y definido (Figura 3.46).

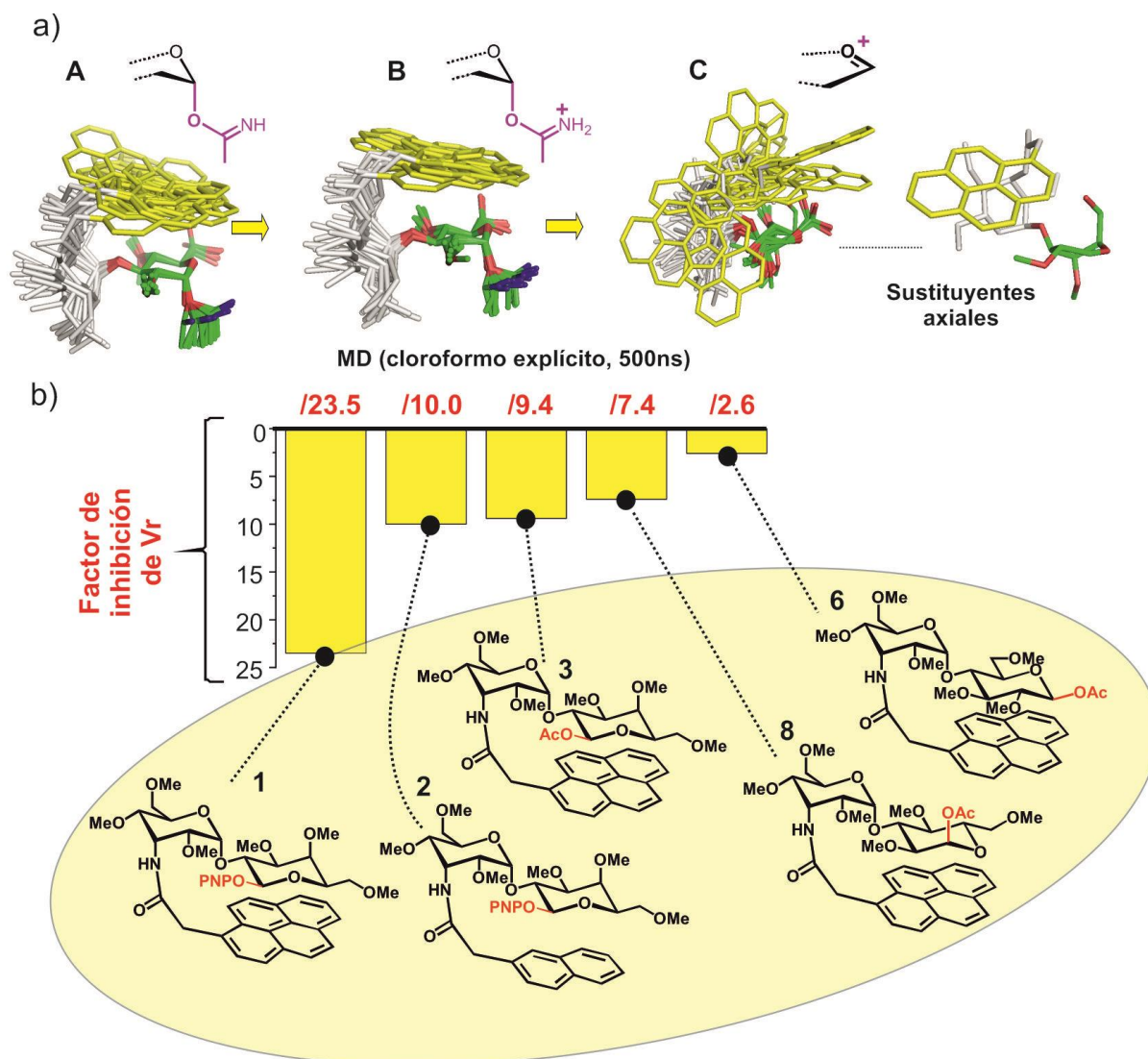


Figura 3.46.- a) Conjuntos de conformaciones, obtenidos a partir de cálculos MD (con cloroformo explícito) para los estados iniciales, activados y disociados (catión glicosilo) realizados con una versión modificada del modelo 6. b) Resumen de los resultados obtenidos con los sistemas modelo de la familia I. La influencia de la plataforma aromática se expresa en forma de inhibiciones (barras hacia abajo) de la velocidad de reacción (V_r). Los correspondientes valores numéricos se muestran en rojo.

Curiosamente, tras la formación del catión glicosilo la movilidad interna del mismo se incrementa en gran medida, siendo frecuentes las rupturas de los contactos carbohidrato/aromático. Dicho fenómeno es consecuencia de la falta

de complementariedad entre ambas especies. De hecho, las simulaciones muestran como la unidad de piranosa tiende a adoptar conformaciones, caracterizadas por la presencia de sustituyentes axiales y, por tanto, incompatibles con el apilamiento. Por el contrario, para los modelos de la familia II la presencia de interacciones más débiles y dinámicas en el estado fundamental, en combinación con la restricción conformacional impuesta a la unidad donadora por el grupo bencilideno, determina un comportamiento diferente (Figura 3.47).

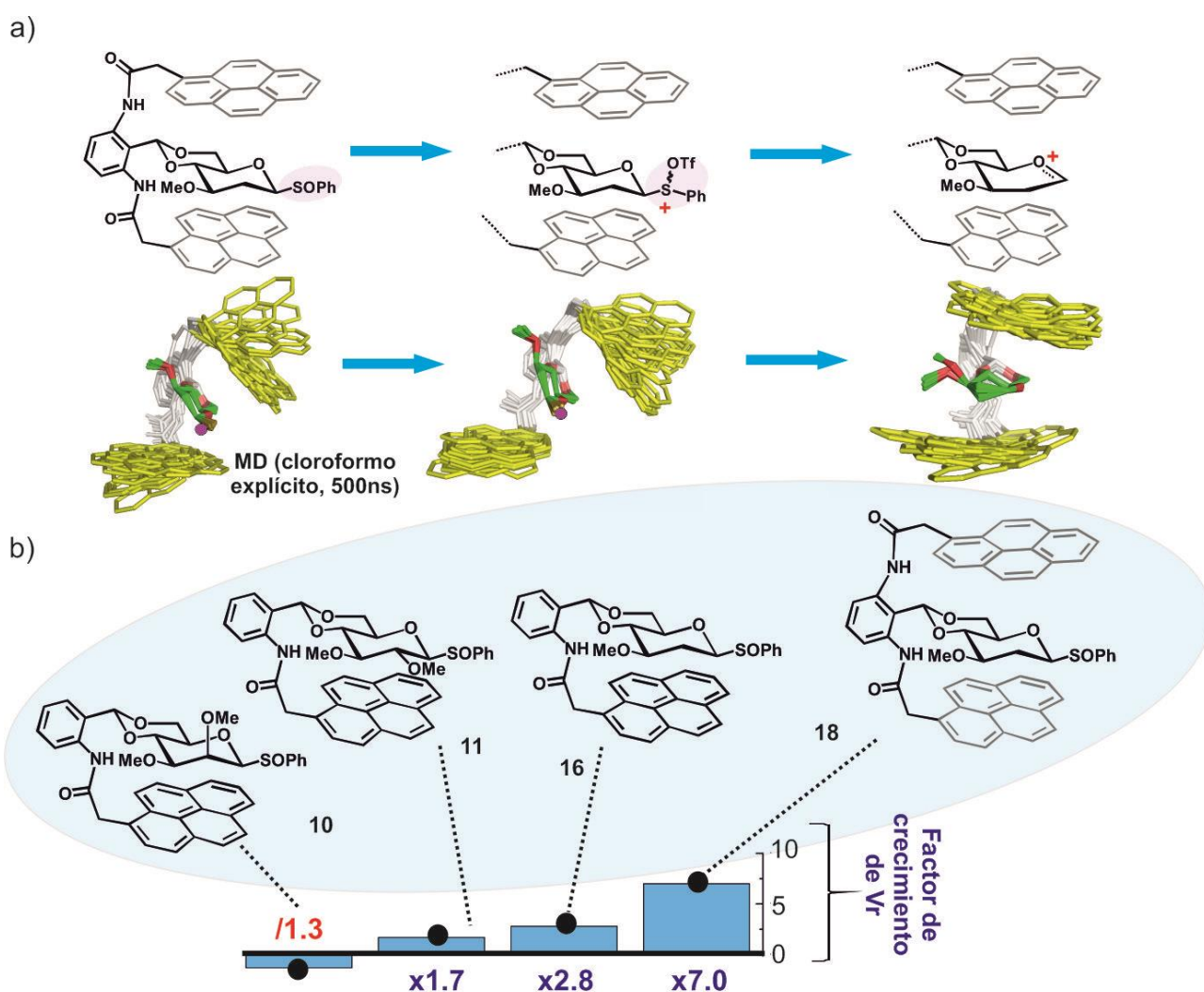


Figura 3.47.- a) Conjuntos de conformaciones, obtenidos a partir de cálculos MD (con cloroformo explícito) para los estados iniciales, activado y disociado (catión glicosilo) del modelo **18**. b) Resumen de los resultados obtenidos con los sistemas modelo de la familia II. La influencia de la plataforma aromática se expresa en forma de inhibiciones (barras hacia abajo) o incrementos (barras hacia arriba) de la velocidad de reacción (V_r). Los correspondientes valores numéricos se muestran en rojo y azul, respectivamente.

Los datos experimentales obtenidos arrojan tres conclusiones claras. En primer lugar, cuanto mayor es el carácter S_N1 de la sustitución, más favorable es el efecto de las plataformas aromáticas sobre la velocidad de la reacción. De acuerdo con esto, sólo se aprecian aceleraciones significativas con donadores de 2-desoxiglucosa, cuya predisposición a evolucionar a través de cationes glicosilo está bien establecida. En segundo lugar, la restricción conformacional impuesta a la piranosa donadora, impide distorsiones significativas del intermedio catiónico y, por tanto, permite interacciones más optimizadas con la unidad de pireno. En tercer lugar, a pesar de que la complementariedad de formas entre el sistema aromático y el catión glicosilo está ligeramente mejorada, sus interacciones deben ser todavía altamente dinámicas. De hecho, la unidad de pireno parece proporcionar un entorno polar más adecuado para el desarrollo de carga positiva en vez de formar un complejo de geometría definida. Esta visión se ve refrendada por el hecho, en cierta medida sorprendente, de que las plataformas aromáticas incorporadas en el modelo **18** no ejercen influencia alguna sobre la estereoselectividad de la glicosilación. De un modo similar, en el caso de los donadores **10**, **11** y **16** se observa un incremento en la velocidad de formación del esterómero minoritario lo que conduce, en todos los casos, a una disminución significativa de la estereoselectividad. El efecto observado podría interpretarse como resultado de un desplazamiento en el mecanismo hacia procesos más disociativos.

En resumen, si bien el cuadrupolo aromático facilita la formación de un catión glicosilo, desde un punto de vista electrostático, las distorsiones conformacionales que acompañan el proceso impiden el establecimiento de contactos CH/π estables.

Curiosamente, cálculos mecánico-cuánticos (a nivel PCM/M06-2X/6-31g(d,p)) llevados a cabo en cloroformo con donadores simplificados, equipados con un acetato anomérico como grupo saliente, tanto restringidos como sin restringir, predicen correctamente una mayor estabilización de los cationes glicosilo por la unidad de pireno en el primero de los casos ($\Delta\Delta G = 5$ kcal/mol vs 2.9-3.0 kcal/mol), lo cual está cualitativamente de acuerdo con nuestras observaciones experimentales (Figura 3.48). Desafortunadamente, las energías de estabilización están en todos los casos sobreestimadas lo cual podría reflejar las limitaciones inherentes a este tipo de aproximaciones teóricas (modelo de

solvatación implícita, complejos intermoleculares y ausencia de contraiones tipo triflato).

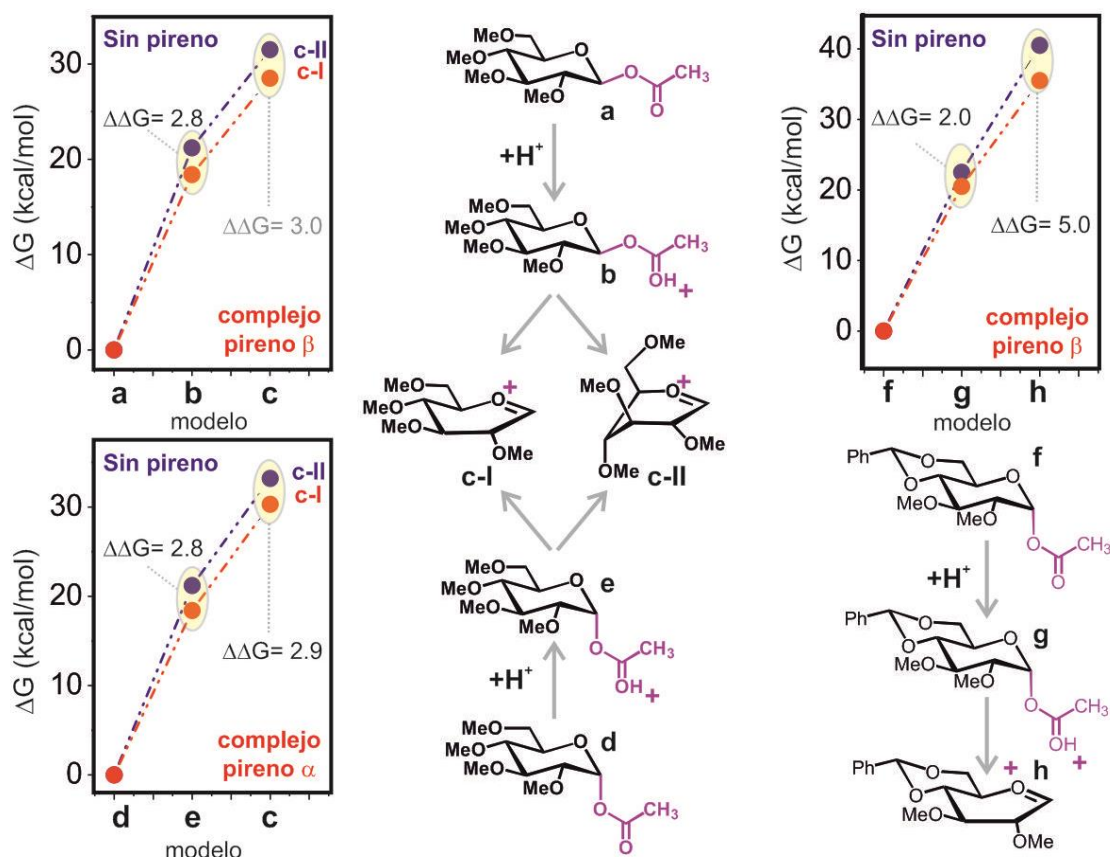


Figura 3.48.- Penalizaciones energéticas asociadas con la protonación de los modelos **a**, **d**, **f** y la subsiguiente formación del catión glicosilo en presencia (rojo) y ausencia (azul) de un sistema pirénico complejoado, estimado mediante cálculos mecánico-cuánticos con PCM/M06-2X/6-31g(d,p) en cloroformo. La geometría del complejo (α o β) se indica en cada caso. Las estabilizaciones netas promovidas por la unidad de pireno se expresan como $\Delta\Delta G$ (kcal/mol). Tanto para los estados libre y complejoado se consideró, en cada caso, la conformación más estable del catión glicosilo.

Finalmente, es preciso mencionar que los contactos carbohidrato/aromático, típicamente observados en el sitio -1 de los complejos glicósido/enzima, presentan rasgos geométricos distintivos, diferentes de los normalmente presentes en módulos de reconocimiento de carbohidratos (CBMs). Así, los contactos laterales (“*edge to-face*”) o paralelos-desplazados (“*parallel-shifted*”) son frecuentes. Dichas interacciones normalmente involucran la formación de tan sólo uno o dos enlaces CH/ π por complejo, en contraste con los tres característicos de las interacciones paralelas habituales en lectinas. Este rasgo probablemente refleja la necesidad de mantener la unidad de piranosa

reactiva relativamente libre de restricciones, y permitir distorsiones de la misma sin penalizaciones energéticas significativas. Curiosamente, cálculos mecánico-cuánticos llevados a cabo con un complejo cristalográfico, formado por un inhibidor catiónico y el centro activo de una glicosidasa (convenientemente simplificado por limitaciones computacionales), sugiere que los residuos aromáticos involucrados en el proceso de reconocimiento molecular contribuyen, a su vez, a estabilizar la carga positiva mediante fuerzas electrostáticas (Figura 3.49). Los anillos aromáticos tendrían, de acuerdo con esto, un papel múltiple en la catálisis, facilitando la asociación del sustrato, impidiendo el acceso de agua al centro catalítico y a su vez proporcionando un entorno relativamente polar, óptimo para el desarrollo de carga positiva.

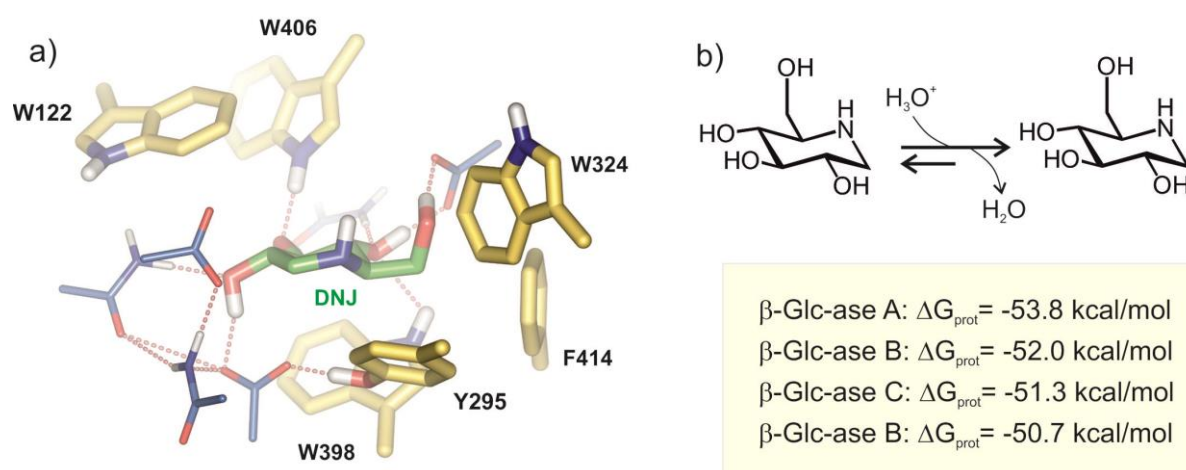


Figura 3.49.- a) Modelo del centro activo de la β -glucosidasa de *Thermotoga Marítima* complejada con el inhibidor deoxi-nojirimicina (NOJ)(PDB 2J77) computado mediante cálculos mecánico-cuánticos con PCM(H_2O)/MO6-2X/6-31G(d). Las cadenas laterales polares se muestran en azul, las aromáticas en amarillo y el inhibidor en verde. Los enlaces de hidrógeno se representan como líneas punteadas. Los hidrógenos no polares se omiten por claridad. b) Equilibrios de protonación calculados para la deoxi-nojirimicina unida al centro activo de la enzima salvaje (β -Glc-asa A) y después de suprimir los residuos Y295 (β -Glc-asa B), Y295+W398 (β -Glc-asa C) y todos los residuos aromáticos (β -Glc-asa D). La reducción observada en el valor de energía libre (valores menos negativos) es consistente con una desestabilización gradual de la carga positiva presente en el inhibidor, en ausencia de los sistemas aromáticos.

En vista de los resultados presentados en esta tesis, cabe concluir que, efectivamente, los sistemas aromáticos pueden contribuir a la estabilización de cationes glicosilo, y por tanto jugar un papel en catálisis, siempre que los complejos resultantes cumplan requerimientos geométricos estrictos.

CAPÍTULO 4

Conclusiones

4.- CONCLUSIONES.

En la presente tesis doctoral se ha realizado una exploración sistemática de la influencia moduladora que las interacciones de apilamiento carbohidrato aromático tienen sobre la reactividad de donadores de glicosilo. Las tareas realizadas a tal efecto se recogen en los siguientes epígrafes:

I. Hemos diseñado dos familias de sistemas modelo (denominadas I y II) que incorporan donadores de glicosilo involucrados en interacciones de apilamiento con sistemas aromáticos. Los compuestos de la familia I se caracterizan por generar complejos estables de geometría definida (de tipo α o β) e incorporar una piranosa reactiva no restringida conformacionalmente. Por el contrario, los modelos tipo II generan complejos más dinámicos y adaptables e incorporan una piranosa reactiva restringida.

II. Hemos sintetizado con éxito 9 disacáridos, incluyendo sistemas modelo y compuestos de referencia, pertenecientes a la familia I, previamente mencionada.

III. Hemos sintetizado con éxito 10 glicosil-sulfóxidos, incluyendo sistemas modelo y compuestos de referencia, pertenecientes a la familia II, previamente mencionada. Con objeto de facilitar el análisis espectroscópico mediante RMN de su comportamiento en reacciones de glicosilación, la mayoría de dichos sistemas ha sido, adicionalmente preparada incorporando etiquetas de ^{13}C , sea en la posición anomérica o en toda la piranosa.

IV. Hemos analizado el comportamiento de los sistemas tipo I en procesos de metanólisis promovidos por ácido, empleando RMN como herramienta fundamental para la monitorización de reacciones y caracterización de reactivos y productos. Este estudio ha permitido derivar parámetros cinéticos para todos los modelos objeto de estudio.

V. Hemos analizado el comportamiento de los sistemas tipo II en reacciones de glicosilación, empleando experimentos de RMN a baja temperatura para la caracterización de reactivos, productos e intermedios, así como para el seguimiento de las transformaciones (sea en experimentos individuales o de competición). Dichos experimentos han permitido determinar la influencia de los sistemas aromáticos sobre las velocidades de glicosilación así como sobre las estereoselectividades de las mismas.

VI. Se han realizado cálculos de dinámica molecular (en colaboración con el Dr. Francisco Corzana de la Universidad de la Rioja) así como mecánico cuánticos (en colaboración con el Dr. Gonzalo Giménez-Osés del CIC-Biogune) para facilitar la interpretación de los resultados experimentales.

Las principales conclusiones derivadas de estos estudios son:

a) La formación de complejos estables de geometría definida, en conjunción con la ausencia de restricciones conformacionales en la unidad reactiva (familia de modelos I) conduce, en todos los casos, a una inhibición significativa de la reactividad, en el rango aproximado 2-20. Este resultado puede explicarse considerando el balance entre dos contribuciones opuestas: electrostáticas y de Van der Waals. La degradación de las segundas, motivada por las distorsiones conformacionales presentes en el catión glicosilo no llega a ser compensada por la potenciación de las primeras. De hecho, los datos, tanto teóricos como experimentales, sugieren que las interacciones de apilamiento carbohidrato/aromático son óptimas en el complejo protonado, de lo cual se deriva un incremento en la energía de activación.

b) Por lo que respecta a los modelos tipo II, hemos detectado incrementos significativos en las velocidades de glicosilación sólo para aquellos que incorporan unidades de 2-desoxiglucosa. Dicha observación resulta plenamente consistente con la mayor tendencia de estos sistemas a participar en procesos S_N1 . Destacar que este constituye el primer ejemplo descrito en la literatura de potenciación de reactividad en reacciones de glicosilación mediante interacciones catión/ π .

c) En donadores de desoxi-glucosa, el incremento en la velocidad de reacción no va acompañado de mejoras en la estereoselectividad, que o permanece inalterada o se reduce ligeramente. Esta observación experimental sugiere que las interacciones oxocarbenio/aromático deben ser altamente dinámicas probablemente debido a la ausencia de una complementariedad de formas adecuada (si bien la influencia del contraión triflato no puede descartarse).

d) Para aquellos sistemas que evolucionan a través de procesos en cierta medida bimoleculares, como los donadores de glucosa o manosa, la capacidad de los sistemas aromáticos de inferir procesos S_N2 y promover reacciones S_N1 determina un desplazamiento mecanístico en el continuo S_N2 - S_N1

hacia procesos más disociativos. Este efecto va, en todos los casos acompañado de una degradación en la estereoselectividad de la reacción.

CAPÍTULO 5

Parte experimental

5.- PARTE EXPERIMENTAL.

5.1.- TÉCNICAS GENERALES.

Todos los disolventes y reactivos necesarios fueron comprados y se usaron tal como se recibieron, a menos que se indique lo contrario. El agua de los compuestos de partida se eliminó mediante destilación azeotrópica con tolueno. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente a menos que se indique lo contrario. Todas las reacciones sensibles a la humedad se realizaron en matraces secos equipados con tapones de vidrio o *septums* de goma bajo una presión positiva de argón. Los líquidos y disoluciones sensibles al aire y/o a la humedad se transfirieron mediante jeringas o cánulas de acero inoxidable. Para secar disoluciones orgánicas, se usaron MgSO_4 o Na_2SO_4 anhidros, y la evaporación de los disolventes se realizó a presión reducida usando un rotavapor. La purificación mediante cromatografía *flash* se realizó con gel de sílice 230-400 (*Merck*). El seguimiento de las reacciones mediante cromatografía de capa fina se realizó utilizando cromatofolios Kieselgel 60 F254. Las manchas se observaron primero con irradiación UV (254 nm) y luego se carbonizaron con una solución de H_2SO_4 acuoso al 5 % (50 mL) en etanol (950 mL). Los espectros de ^1H y ^{13}C -RMN se registraron en CDCl_3 a 300, 400 o 500 MHz y 75, 101 o 126 MHz, respectivamente. Los desplazamientos químicos fueron expresados en partes por millón (escala δ) y referenciados a la señal residual de H del disolvente (CHCl_3 : δ 7.26 ppm). Las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hz. Todos los espectros de ^{13}C -RMN presentados están desacoplados con los protones. Los espectros de masas se registraron mediante inyección directa con un espectrómetro Q-TOF LC/MS de masa precisa equipado con una fuente de iones de *electrospray* en modo positivo.

5.2.- PROCEDIMIENTOS GENERALES.

Procedimiento I: Método general para la glicosilación con donadores de tipo tricloroacetimidato.

A una disolución del donador tricloroacetimidato **A9** (1.2 mmol) y el alcohol aceptor (1.0 mmol) en una mezcla anhidra de Et₂O/DCM (3:1, 50 mL/mmol), se le añadieron tamices moleculares de 4 Å. La mezcla se agitó, bajo atmósfera de argón, a temperatura ambiente durante 15 min, y pasado este tiempo se enfrió a -78 °C. A continuación, se añadió TMSOTf (0.3 mmol) y la mezcla resultante se agitó, dejándose templar hasta -65 °C, durante 30-120 min hasta que ya no se detectó producto de partida por TLC. La reacción se detuvo mediante adición de Et₃N, se diluyó con DCM (20 mL) y se lavó con agua (2 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento II: Método general para la glicosilación con donadores de tipo tioglicósido.

El donador **A7** (1.0 mmol), Ph₂SO (1.3 mmol) y 2,6-di-*terc*-butilmetilpiridina (DTBMP) (3.0 mmol) fueron coevaporados dos veces con tolueno seco y seguidamente disueltos en DCM anhidro (20 mL/mmol) junto con tamices de 4 Å recién activados. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se enfrió a -78 °C. A continuación, se añadió Tf₂O (1.3 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se dejó agitar a -78 °C durante 15 minutos, antes de añadir el aceptor (2.0 mmol) disuelto en DCM anhidro (20 mL/mmol). La mezcla se agitó durante 1.5 h mientras se dejaba templar gradualmente. A continuación, la reacción se detuvo mediante adición de Et₃N, se filtró y se eliminó el disolvente bajo presión reducida. El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento III. Método general de reducción de azidas por reacción de Staudinger.

A una disolución de la azida (1.0 mmol) en THF (10 mL/mmol) se le añadió una disolución de NaOH 0.1 M (2 mL) o H₂O (2 mL), según se indique en cada caso y PMe₃ (1.5 mmol/por azida, 1 M en THF). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura apropiada para cada derivado hasta no detectarse producto de partida por TLC. El crudo de reacción se llevó a sequedad y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento IV. Método general para el acoplamiento de ácidos y aminas promovido por EDC y HOBt.

A una disolución del ácido carboxílico (1.1 mmol) en DMF anhidra (10 mL/mmol) se le añadió EDC (1.1 mmol) y HOBt (1.1 mmol), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación, se añadió la amina (1 mmol) disuelta en DMF anhidra (10 mL/mmol) y por último DIPEA (2.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta no detectarse producto de partida por TLC. El crudo de reacción se llevó a sequedad y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento V. Método general para la metilación de grupos hidroxilo.

A una disolución del alcohol (1.0 mmol) en DMF anhidra o THF anhidro (5 mL/mmol), según se especifique en cada caso, a 0 °C y bajo atmósfera de argón, se le añadió NaH (60 %) (1.5 mmol/por cada hidroxilo) y MeI (2.0 mmol/por cada hidroxilo). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta observar la desaparición completa del producto de partida por TLC. La reacción se detuvo por adición de agua y se extrajo con AcOEt. Por último, la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, el residuo se llevó a sequedad y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento VI. Método general para la bencilidenación de dioles.

A una disolución del alcohol (1.0 mmol) en ACN anhidro (10 mL/mmol) se le añadió, bajo atmósfera de argón, *p*-TsOH anhidro (0.1 mmol) y posteriormente el arilaldehído dimetilacetal correspondiente (1.2 mmol) disuelto en ACN seco (5 mL/mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente hasta la completa conversión del producto de partida (1-3 h), seguidamente se neutralizó con Et₃N y el crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento VII. Método general para el acoplamiento de ácidos y aminas promovido por HATU.

A una disolución de la amina (1.0 mmol), el ácido carboxílico apropiado (1.2 mmol) y DIPEA (2.5 mmol) en DMF anhidra (2 mL/mmol), se le añadió HATU (1.3 mmol). La mezcla se sometió a irradiación de microondas y agitación a la temperatura apropiada para cada derivado hasta que no se detectó producto de partida por TLC. El disolvente se evaporó bajo presión reducida y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento VIII. Método general para la oxidación de tioglicósidos a los correspondientes sulfóxidos.

A una disolución del tioglicósido (1.0 mmol) en DCM anhidro (15 mL/mmol) a -78 °C, se le añadió, bajo atmósfera de argón, ácido *m*-cloroperbenzoico (77 %) (1.1 mmol). La mezcla se agitó a -78 °C hasta observarse la completa desaparición del producto de partida por TLC. La reacción se detuvo por adición de Na₂S₂O₃ sólido, la mezcla resultante se llevó a sequedad (sin calefacción externa) y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento IX. Método general para la desprotección de grupos ésteres (acetatos y benzoatos).

A una disolución del éster (1.0 mmol) en MeOH (20 mL/mmol), se le añadió una cantidad catalítica (10 % w/w) de NaOMe recién preparado. La reacción se agitó a temperatura ambiente hasta observar la completa desaparición del producto de partida. A continuación, se neutralizó con amberlita IR 120, se filtró y se concentró bajo presión reducida.

Procedimiento X. Método general la per-O-benzoilación de azúcares.

A una disolución del azúcar desprotegido (1.0 mmol) en piridina seca (3 mL) a 0 °C, bajo atmósfera de argón, se le añadió, gota a gota, cloruro de benzoílo (1.6 mmol/ hidroxilo libre) y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La reacción se enfrió a 0 °C y el exceso de cloruro de benzoílo se consumió mediante la adición de MeOH. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se redisolvió en DCM y se lavó con sendas disoluciones de HCl (2 M), NaHCO₃ y NaCl. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente bajo presión reducida. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.

Procedimiento XI. Método general para los experimentos de metanólisis en tubos de RMN.

Una disolución de CD₃OD (1 % v/v) en CDCl₃ fue transferida a un tubo de RMN de 5 mm equipado con un septum y purgado con argón. A continuación, se añadieron las disoluciones del correspondiente donador (para los ensayos individuales) o donadores (para las competiciones) en CDCl₃ (50 µL de cada una, 100 mM), se agitó la mezcla y se registraron los espectros 1D y 2D-HSQC para la mezcla de partida a la temperatura de trabajo adecuada (5 o 25 °C). Posteriormente, se sumergió el tubo en un baño de hielo, se adicionó TfOH (3-5

μL) y se transfirió inmediatamente al imán siguiendo la evolución temporal de la mezcla mediante experimentos secuenciales 1D- ^1H y 2D-HSQC. Los experimentos de RMN se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance 600 MHz provisto de criosonda. Los datos de 1D- ^1H fueron adquiridos con 8-16 acumulaciones y un tiempo de relajación de 2 s. Los espectros 2D-HSQC se realizaron con 64-128 incrementos y 8-16 acumulaciones por incremento, lo que supuso una duración de entre 6 y 16 min por espectro. Este tiempo resultó suficiente para la monitorización de los lentos procesos de metanólisis. Las poblaciones relativas de reactivos y productos a lo largo de las reacciones se determinaron integrando señales de RMN seleccionadas en los conjuntos de datos 1D- ^1H y 2D-HSQC a diferentes tiempos de reacción. De hecho, estos últimos experimentos demostraron ser especialmente útiles para el análisis de ensayos de competición, dada la complejidad de las mezclas de reacción resultantes, formadas por hasta seis disacáridos altamente similares. Los espectros obtenidos de cada ensayo de reactividad (1D o 2D) se procesaron utilizando MestReNova (v. 10.0, Mestrelab Research S.L.). Cada espectro se escaló individualmente en la región de interés y se corrigió la línea base. Los rangos de integración se seleccionaron para evitar la superposición de señales y para dar cuenta de la desviación máxima de los picos en el transcurso de la reacción. Los volúmenes máximos absolutos de los mismos (para conjuntos de datos 2D) se normalizaron y se convirtieron en poblaciones relativas (0-100 %) con el supuesto (apoyado por los datos de RMN) de que no se produjeron reacciones secundarias significativas. Estos se representaron con respecto al tiempo de reacción empleando el paquete ofimático Origin. Las cinéticas de reacción se ajustaron asumiendo un modelo de pseudo-primer orden, empleando las ecuaciones (1) y (2) para la desaparición del donador y la formación del producto, respectivamente:

$$(1) D(t)=100e^{-kt} \quad (2) P(t)= 100(1-e^{-kt})$$

donde $D(t)$ y $P(t)$ representan la población de donador y de producto (0-100 %) en un momento determinado, t . La influencia ejercida por las plataformas aromáticas sobre las velocidades de reacción se expresó en términos de relaciones de constantes cinéticas ($k_{\text{referencia}} / k_{\text{+aromático}}$).

Procedimiento XII. Método general para los experimentos de glicosilación con donadores de tipo sulfóxido en tubo de RMN.

Teniendo en cuenta el aumento de la complejidad que desde un punto de vista experimental suponen estas reacciones multicomponente, con cada derivado se llevaron a cabo un mínimo de tres ensayos, en condiciones idénticas de reacción. Adicionalmente, se realizaron experimentos de competición con mezclas equimoleculares seleccionadas. Así, se añadieron, el estándar interno de integrales 4,4,5,5-tetrametil-2-(naftalen-1-il)-1,3-dioxolano (25.6 mg, 0.1 mmol), DTBMP (61.5 mg, 0.3 mmol), el aceptor apropiado (5-8 equivalentes según el donador) y tamices moleculares activados de 4 Å (100 mg) a un vial previamente secado y provisto de un septum. El vial se purgó con argón antes de la adición de CDCl_3 (10 mL). A continuación se transfirieron 550 μL de la disolución anterior a un tubo de RMN de 5 mm, provisto de un septum y purgado con argón. Por último, se añadió al tubo una disolución del donador correspondiente disuelto en CDCl_3 (50 μL , 100 mM) y se agitó para homogeneizar la mezcla.

Posteriormente, el tubo de RMN se enfrió en un baño de acetona/ nitrógeno líquido a la temperatura de reacción seleccionada antes de disparar la reacción con Tf_2O (1.5 equiv., 1.4 μL) e inmediatamente se transfirió al espectrómetro de RMN, previamente equilibrado a la temperatura de trabajo adecuada. Antes de cada experimento, se sintonizaron el *lock*, la sintonía (*tuning* y *matching*) y el *shimming* en un tubo preparado de manera idéntica, que contenía todos los componentes de la reacción. Las reacciones de glicosilación fueron seguidas mediante experimentos de RMN a baja temperatura (-65 / -50 °C), empleando un

espectrómetro Bruker Avance de 500 MHz. Los espectros 1D- ^1H se adquirieron con 300 pulsos de excitación y tiempos de relajación de 1 s. La sensibilidad adicional proporcionada por las muestras etiquetadas con ^{13}C nos permitió adquirir conjuntos de datos 2D-HSQC con sólo 2 acumulaciones por incremento y 64 incrementos, lo que limitó el tiempo experimental total a 2-3 minutos. Estas condiciones resultaron adecuadas para monitorizar reacciones de glicosilación relativamente rápidas. Los *offsets* de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN se centraron en 5 y 90 ppm respectivamente, lo que permitió una excitación óptima de los grupos CH anoméricos. Adicionalmente, un tiempo de *delay* correspondiente a un valor de $^1J_{\text{CH}}$ de 165 Hz (un promedio estimado para los CH anoméricos α y β) fue empleado en todos los casos. El procesado de los datos se llevó a cabo con MestReNova, como se describió anteriormente para los ensayos de metanólisis.

Para los modelos de manosa y glucosa **10-15**, las reacciones se llevaron a cabo de forma individual o en experimentos de competición por pares. La ausencia de picos bien resueltos para todos los productos de glicosilación en los conjuntos de datos 1D (particularmente para **10** y **11**), nos llevó a basarnos principalmente en experimentos 2D-HSQC para estimar poblaciones relativas a diferentes tiempos de reacción. Para evaluar la validez de esta aproximación, realizamos experimentos HSQC de control empleando tiempos de relajación crecientes (en el rango de 1-10 s). Dichos experimentos nos permitieron concluir que este parámetro tenía una influencia relativamente menor (<10 %) en las relaciones de volumen estimadas. Cuando fue posible, los valores derivados de los conjuntos de datos 2D, también fueron confirmados por experimentos 1D, para señales seleccionadas no superpuestas. Las concentraciones relativas a tiempos cortos de reacción (<10 min, correspondientes, en general, con una evolución <20 %) se tomaron como indicativas de las velocidades de formación relativas para los diferentes productos.

Para los derivados de 2-desoxiglucosa **16-19**, que muestran la mayor influencia del apilamiento aromático en la reactividad del donador, se intentó dar un enfoque más cuantitativo. Esto se vio facilitado en gran medida por la presencia de señales de RMN bien resueltas para todas las especies involucradas (extremadamente desplazadas a campo alto por los pirenos en el caso de **19**). Así, las integrales de los picos correspondientes a los diferentes productos glicosilados (**27, 28, 30 y 31**) en los conjuntos de datos 1D se transformaron en porcentaje de conversión utilizando la expresión:

$$C \% = (P_t/S_t) \cdot 100 / (D_0/S_0)$$

donde D_0 y S_0 corresponden a los valores de integración de un pico del donador y del estándar interno a tiempo cero (tiempo = 0), y P_t y S_t son los valores de integración para un pico dado del producto glicosilado y el estándar interno a un tiempo de reacción concreto (tiempo = t).

Las conversiones se representaron con respecto a los tiempos de reacción empleando el paquete Origin (OriginLab Corporation).

Finalmente, se estimaron las velocidades de reacción relativas para los diferentes productos, a partir de sus conversiones relativas en tiempos cortos de reacción, sin hacer presunciones mecanísticas.

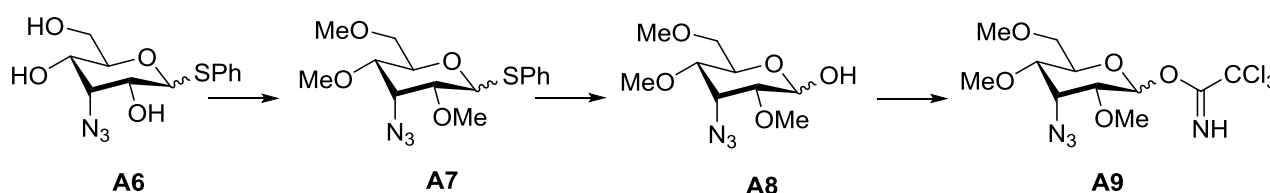
Procedimiento XIII. Método general para los experimentos de glicosilación con donadores de tipo sulfóxido.

A un matraz de fondo redondo de 50 mL, previamente secado en una estufa, y equipado con una barra de agitación, se le añadió el sulfóxido de glicosilo correspondiente (0.1 mmol), tamices de 4 Å (100 % w/w) y DTBMP (61.5 mg, 0.3 mmol). A continuación, el matraz se purgó tres veces con ciclos de vacío/argón, se añadió DCM anhidro (2.5 mL/mmol) bajo atmósfera de argón y la mezcla se enfrió a la temperatura designada para cada caso con un baño de

acetona y hielo seco. El aceptor (0.5-0.8 mmol) se inyectó en la mezcla, seguido de la adición, lenta, de TiF_4 (24 μL , 1.5 mmol). La mezcla resultante se agitó a la temperatura de reacción correspondiente hasta que el análisis por TLC mostró la desaparición completa del material de partida, momento en el que se añadió Et_3N (0.1 mL) y la mezcla de reacción inactivada se dejó templar a temperatura ambiente, se filtró, se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice.

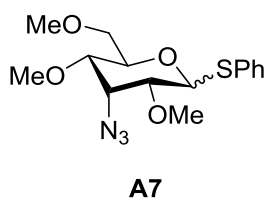
5.3.- SÍNTESIS DE LOS MODELOS TIPO I.

5.3.1- SÍNTESIS DE LOS DONADORES DE GLICOSILO A7 y A9.



Esquema 5.1.- Ruta sintética para la preparación de los donadores de glicosilo **A7** y **A9** empleada en la preparación de los disacáridos **1-9**.

Compuesto A7.

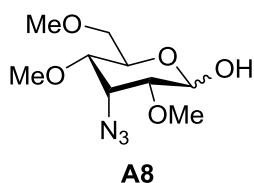


Dicho compuesto se obtuvo siguiendo el *procedimiento general* V, por reacción de la azida **A6**.³³ (2.24 g, 7.54 mmol), NaH (60 %) (904 mg, 37.6 mmol), y MeI (1.9 mL, 30.2 mmol) en THF (38 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura

ambiente durante toda la noche y se purificó mediante cromatografía en columna (Hex/AcOEt 95:5) para dar el derivado **A7** (1.83 g, 71 %) como una mezcla de anómeros α/β 1.1:1. Para el **anómero α** : ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.53-7.49 (m, 3H, Ar), 7.34-7.14 (m, 2H, Ar), 5.57 (d, J = 5.8 Hz, 1H, H-1), 4.43 (t, J = 3.2 Hz, 1H, H-3), 4.28 (ddd, J = 9.8, 3.2, 2.1 Hz, 1H, H-5), 3.70 (dd, J = 10.7, 3.2 Hz, 1H, H-

6a), 3.69 (dd, $J = 5.8, 3.2$ Hz, 1H, H-2), 3.61 (dd, $J = 10.7, 2.1$ Hz, 1H, H-6_b), 3.50 (dd, $J = 9.8, 3.2$ Hz, 1H, H-4), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 137.4 (C, Ar), 130.9 (2 CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 86.7 (CH-1), 77.5 (CH-2), 75.1 (CH-4), 70.8 (CH₂-6), 67.2 (CH-5), 59.4 (OCH₃), 58.9 (CH-3), 57.5 (OCH₃), 57.2 (OCH₃); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₅H₂₁N₃NaO₄S [M+Na]⁺: 362.11450, encontrada: 362.11409. Para el **anómero β** : **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.55-7.51 (m, 2H, Ar), 7.32-7.24 (m, 3H, Ar), 4.88 (d, $J = 9.6$ Hz 1H, H-1), 4.49 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-3), 3.71 (ddd, $J = 9.7, 4.0, 2.0$ Hz, 1H, H-5), 3.61 (dd, $J = 2.0, 10.9$ Hz, 1H, H-6_a), 3.56 (dd, $J = 4.0, 10.9$ Hz, 1H, H-6_b), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 3.44 (s, 3H, OCH₃), 3.38 (dd, $J = 3.2, 9.7$ Hz, 1H, H-4), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.14 (dd, $J = 9.6, 3.2$ Hz, 1H, H-2); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 133.2 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 127.7 (CH, Ar), 84.0 (CH-1), 78.7 (CH-2), 75.7 (CH-4), 75.2 (CH-5), 71.3 (CH₂-6), 59.6 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 58.1 (CH-3), 57.6 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₅H₂₅N₄O₄S [M+NH₄]⁺: 357.1591, encontrada: 357.15857.

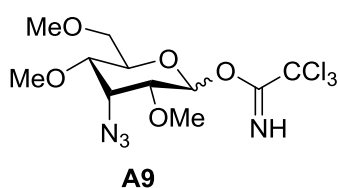
Compuesto A8.



A una disolución del derivado **A7** (870 mg, 2.56 mmol) en una mezcla acetona/agua (9:1) (13 mL) se le añadió NBS (684 mg, 3.84 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 h y después se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto resultante se redisolvió en AcOEt y se lavó con una disolución saturada de Na₂S₂O₃, y posteriormente con NaHCO₃. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se llevó a sequedad. El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 3:7) para obtener el compuesto **A8** (632 mg, 99 %) como una mezcla de anómeros α/β 1:5.3. Picos seleccionados para el **anómero mayoritario**: **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 4.92 (dd, $J = 7.7, 5.4$ Hz, 1H, H-1), 4.41 (t, $J = 3.4$ Hz, 1H, H-3), 3.81 (ddd, $J = 9.7, 5.2, 2.0$ Hz, 1H, H-5), 3.62 (dd,

$J = 10.4, 2.0$ Hz, 1H, H-6_b), 3.56 (s, 3H, OCH₃), 3.57-3.53 (dd, $J = 10.4, 5.2$ Hz, 1H, H-6_a), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.53 (dd, $J = 9.7, 3.4$ Hz, 1H, H-4), 3.08 (dd, $J = 7.7, 3.4$ Hz, 1H, H-2); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 94.3 (CH-1), 80.3 (CH-2), 76.4 (CH-4), 72.2 (CH-5), 71.5 (CH₂-6), 59.3 (CH-3), 58.7 (OCH₃), 57.4 (OCH₃), 59.15 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₉H₂₁N₄O₅ [M+NH₄]⁺: 265.15065, encontrada: 265.15135.

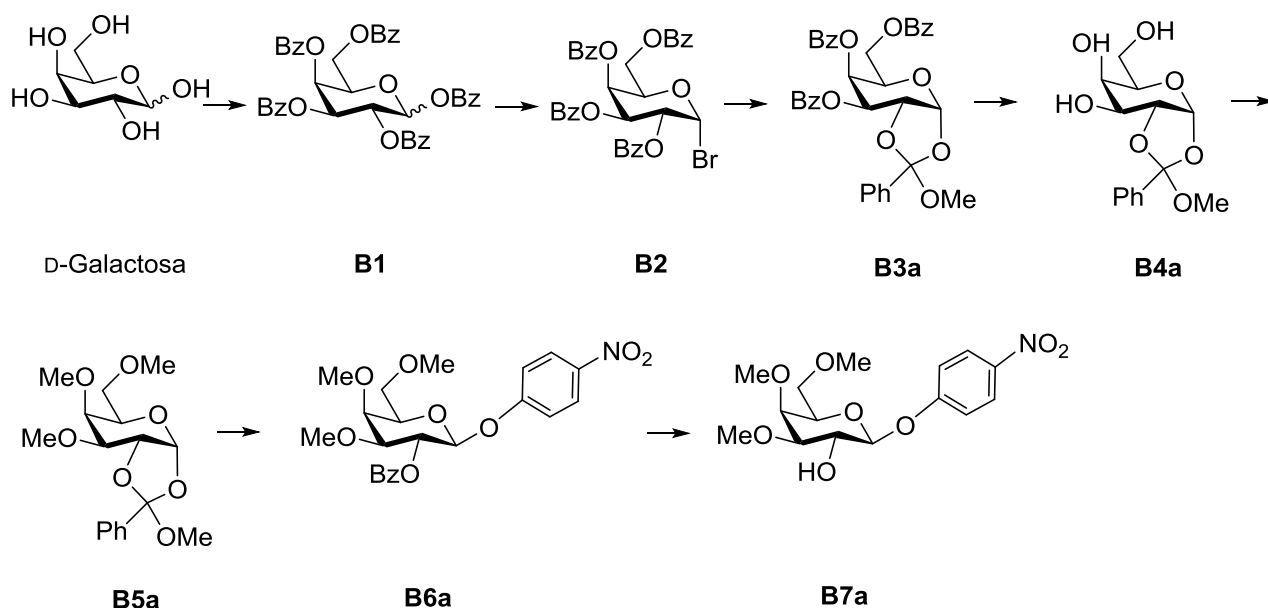
Compuesto A9.



A una disolución del hemiacetal **A8** (152 mg, 0.62 mmol) en DCM anhidro (6 mL) a 0 °C y bajo atmósfera de argón, se le añadió tricloroacetnitrilo (0.74 mL, 7.38 mmol) y, DBU (20 μ L, 0.155 mmol), y la mezcla resultante se dejó reaccionar durante 3 h a 0 °C. Posteriormente, se llevó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 \rightarrow 8:2) para obtener el compuesto **A9** (148 mg, 62 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.66 (s, 1H, NH), 5.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1), 4.46 (t, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-3), 3.89 (ddd, $J = 9.5, 3.3, 2.1$ Hz, 1H, H-5), 3.64-3.60 (m, 2H, 2 H-6), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (dd, $J = 9.5, 3.3$ Hz, 1H, H-4), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (dd, 1H, $J = 8.0, 3.3$ Hz, H-2), 3.38 (s, 3H, OCH₃); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 161.2 (C=NH), 96.4 (CH-1), 78.8 (CH-2), 75.5 (CH-4), 73.5 (CH-5), 70.6 (CH₂-6), 60.2 (CH-3), 59.6 (OCH₃), 59.5 (OCH₃), 57.8 (OCH₃).

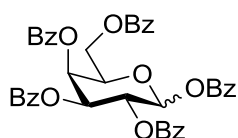
5.3.2.- SÍNTESIS DE LOS ACEPTORES DE GLICOSILO B7a, B7b, C10 y D5.

5.3.2.1. Síntesis del aceptor de glicosilo B7a.



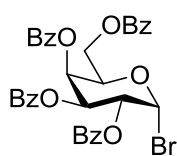
Esquema 5.2.- Ruta sintética para la preparación del aceptor de glicosilo **B7a**, empleado en la preparación de los disacáridos **1**, **2** y **4**.

Compuesto B1.



El compuesto **B1** se obtuvo siguiendo las directrices del *procedimiento general X* (12 h, t.a.), por reacción de D-galactosa comercial (1.0 g, 5.55 mmol) y cloruro de benzoílo (5.3 mL, 46 mmol). El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3) para rendir el derivado **B1** (3.63 g, 93 %).

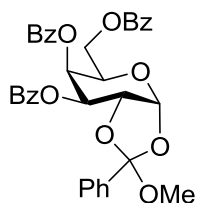
Compuesto B2.



El derivado **B1** (3.6 g, 5.18 mmol) se disolvió en DCM anhidro (12.8 mL), se enfrió a 0 °C, bajo atmósfera inerte, y se trató con anhídrido acético (1.28 mL) y una disolución al 33 % de HBr en AcOH (10.7 mL). Pasadas 24 horas, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y agua/hielo y se

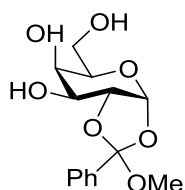
dejó agitar 15 minutos. La fase orgánica se separó y se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el derivado **B2**,¹¹⁸ el cual se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación previa (3.16 g).

Compuesto B3a.



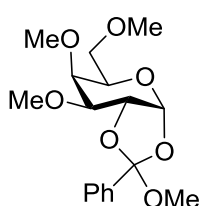
Una disolución del bromuro **B2** (4.10 g, 6.23 mmol) en ACN anhidro (25 mL) en presencia de tamices de 4 Å, se trató con MeOH, (2.5 mL, 62.3 mmol), bromuro de tetrabutilamonio (1.41 g, 12.46 mmol) y NaHCO_3 anhidro (1.05 g, 12.46 mmol), según el procedimiento de Shao y colaboradores.¹⁰² La reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 24 h y después se filtró sobre Celita®. La disolución resultante se concentró a vacío y el crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 95:5 → 9:1) para obtener el ortoéster **B3a** (3.32 g, 89 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.00-7.89 (m, 6H, Ar), 7.69-7.65 (m, 2H, Ar), 7.54 (m, 3H, Ar), 7.45-7.34 (m, 9H, Ar), 6.23 (d, J = 5.0 Hz, 1H, H-1), 5.83 (dd, J = 4.1, 2.5 Hz, 1H, H-4), 5.55 (dd, J = 6.1, 4.1 Hz, 1H, H-3), 4.81 (dd, J = 6.1, 5.0 Hz, 1H, H-2), 4.61 (dd, J = 11.2, 6.7 Hz, 1H, H6_a), 4.54 (td, J = 6.7, 5.4, 2.5 Hz, 1H, H-5), 4.40 (dd, J = 11.2, 5.4 Hz, 1H, H-6_b), 3.26 (s, 3H, OCH₃); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 166.1 (C=O), 165.4 (C=O), 165.3 (C=O), 136.3 (C, Ar), 133.6 (CH, Ar), 133.5 (CH, Ar), 133.3 (CH, Ar), 129.9 (2 CH, Ar), 129.9 (2 CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.7 (CH, Ar), 129.5 (C, Ar), 129.2 (C, Ar), 129.0 (C, Ar), 128.7 (2 CH, Ar), 128.6 (2 CH, Ar), 128.5 (2 CH, Ar), 128.4 (2 CH, Ar), 126.1 (2 CH, Ar), 120.7 (O-C-O), 98.3 (CH-1), 73.6 (CH-2), 70.2 (CH-3), 69.0 (CH-5), 66.6 (CH-4), 62.4 (CH₂-6), 51.2 (OCH₃); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₅H₃₀NaO₁₀ [M+Na]⁺: 633.17312, encontrada: 633.17308.

Compuesto B4a.



El derivado **B4a** se sintetizó a partir del ortoéster **B3a** (6.3 g, 10.0 mmol), siguiendo el *procedimiento general IX* (3 h, t.a.). El crudo se empleó en la siguiente reacción sin purificación previa.

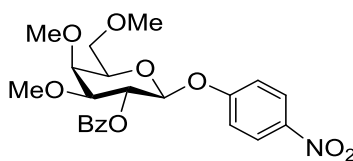
Compuesto B5a.



El derivado **B5a** se sintetizó siguiendo el *procedimiento general V*, por reacción del crudo **B4a**, NaH (60 %) (2.02 g, 84.0 mmol) y MeI (2.5 mL, 40.2 mmol) en DMF anhidra. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y el residuo

resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 8:2) para obtener el derivado **B5a** (1.36 g, 39 %, dos pasos). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.65-7.58 (m, 2H, Ar), 7.36 (m, 3H, Ar), 5.91 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H-1), 4.45 (dd, *J* = 7.0, 4.8 Hz, 1H, H-2), 3.90 (td, *J* = 6.6, 1.6 Hz, 1H, H-5), 3.58-3.53 (m, 3H, H-4, 2 H-6), 3.51 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 3.15 (dd, *J* = 7.0, 2.7 Hz, 1H, H-3); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 138.6 (C, Ar), 129.1 (CH, Ar), 128.3 (2 CH, Ar), 126.0 (2 CH, Ar), 119.9 (O-C-O), 98.7 (CH-1), 81.1 (CH-3), 77.4 (CH-2), 74.1 (CH-4), 72.3 (CH-5), 70.8 (CH₂-6), 61.2 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 57.7 (OCH₃), 50.6 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₇H₂₄NaO₇ [M+Na]⁺: 363.14142, encontrada: 363.14265.

Compuesto B6a.

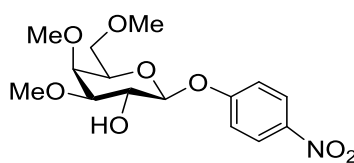


El ortoéster **B5a** (202 mg, 0.59 mmol) y *p*-nitrofenol (165 mg, 1.19 mmol) se coevaporaron con tolueno (5 mL) y se mantuvieron a vacío durante toda la noche. La

mezcla seca se disolvió en ACN anhidro (10 mL) junto con tamices AW-300 (1.6 mm *pellets*, 5 g) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora.¹¹⁹ El crudo de reacción se trató con Et₃N, se filtró, se concentró a vacío y se purificó mediante

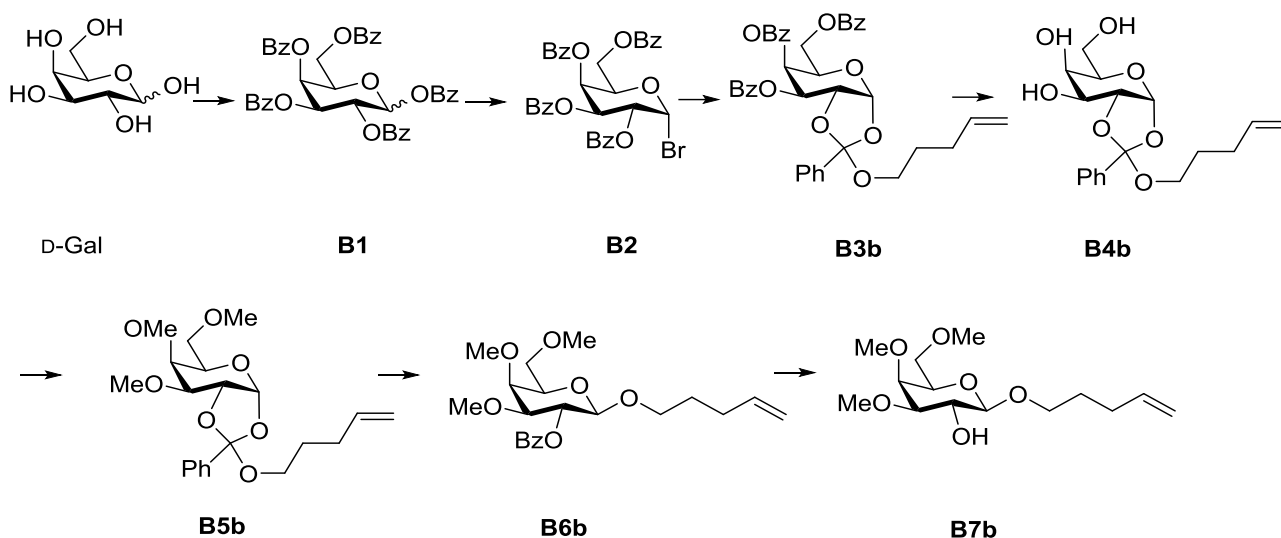
cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 7:3) para rendir el compuesto **B6a** (158 mg, 60 %): $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.17-8.10 (m, 1H, 1H, Ar), 8.06-8.01 (m, 2H, Ar), 7.57 (ddt, $J = 7.8, 7.0, 1.3$ Hz, 1H, Ar), 7.47-7.41 (m, 3H, Ar), 7.06-7.01 (m, 2H, Ar), 5.77 (dd, $J = 10.0, 7.8$ Hz, 1H, H-2), 5.22 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-1), 3.87 (dd, $J = 2.9, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 3.83 (ddd, $J = 6.6, 6.1, 1.1$ Hz, 1H, H-5), 3.71 (dd, $J = 9.5, 6.6$ Hz, 1H, H-6_a), 3.64 (s, 3H, OCH_3), 3.65 (dd, 1H, $J = 9.5, 6.1$ Hz, 1H, H-6_b), 3.57 (dd, $J = 10.0, 2.9$ Hz, 1H, H-3), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.43 (s, 3H, OCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 165.5 (C=O), 161.8 (C, Ar), 142.96 (C, Ar), 133.41 (CH, Ar), 129.88 (2 CH, Ar), 128.60 (2 CH, Ar), 126.33 (C, Ar), 125.79 (2 CH, Ar), 116.84 (2 CH, Ar), 99.1 (CH-1), 82.5 (CH-3), 74.5 (CH-5), 74.4 (CH-4), 71.4 (CH-2), 70.8 (CH_2 -6), 61.5 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 58.5 (OCH_3). **HRMS (ESI)** m/z calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 465.18676, encontrada: 465.18834.

Compuesto B7a.



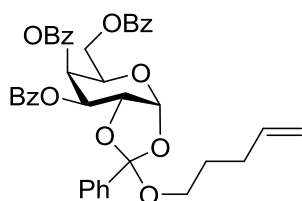
El derivado **B7a** se sintetizó siguiendo el *procedimiento general IX* (3 h, t.a.), a partir del derivado **B6a** (158 mg, 0.35 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH 99:1 → 98:2) para dar el glicósido **B7a** (90 mg, 75 %). $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.18 (dd, $J = 9.3, 0.8$ Hz, 2H, Ar), 7.18-7.01 (m, 2H, Ar), 5.00 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-1), 4.09 (dd, $J = 9.7, 7.6$ Hz, 1H, H-2), 3.79 (dd, $J = 2.9, 1.0$ Hz, 1H, H-4), 3.74 (ddd, $J = 7.1, 6.0, 1.0$ Hz, 1H, H-5), 3.64 (dd, $J = 9.5, 7.0$ Hz, 1H, H-6_a), 3.59 (s, 3H, OCH_3), 3.58 (s, 3H, OCH_3), 3.57-3.54 (m, 1H, H-6_b), 3.40 (s, 3H, OCH_3), 3.29 (dd, $J = 9.7, 2.9$ Hz, 1H, H-3), 2.61 (s.a., 1H, OH); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 161.9 (C, Ar), 142.9 (C, Ar), 125.8 (2 CH, Ar), 116.7 (2 CH, Ar), 100.3 (CH-1), 83.9 (CH-3), 74.3 (CH-5), 73.7 (CH-4), 70.7 (CH_2 -6), 70.4 (CH-2), 61.3 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 58.1 (OCH_3). **HRMS (ESI)** m/z calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 436.17883, encontrada: 436.17745.

5.3.2.2. Síntesis del aceptor de glicosilo B7b.

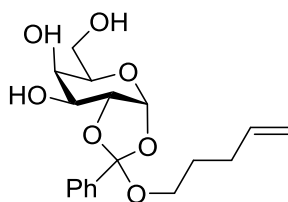


Esquema 5.3.- Ruta sintética para la preparación del aceptor de glicosilo **B7b**, empleado en la preparación de los disacáridos **3** y **5**.

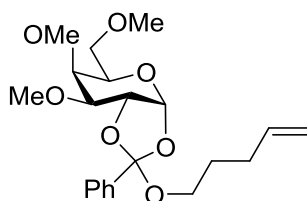
Compuesto B3b.



A una disolución del bromuro **B2** (2.76 g, 4.19 mmol) en DCM anhidro (9.5 mL), se le añadió, bajo atmósfera de argón, 2,6-lutidina (0.73 mL, 6.28 mmol), 4-penten-1-ol (0.56 mL, 5.45 mmol) y yoduro de tetrabutilamonio (77 mg, 0.21 mmol). La mezcla resultante se agitó a reflujo durante toda la noche. Una vez enfriada a temperatura ambiente, se diluyó con DCM y la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para rendir el compuesto **B3b** (1.26 g, 45 %), idéntico al previamente descrito en la literatura.¹²⁰

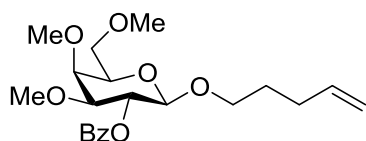
Compuesto B4b.

Dicho compuesto se sintetizó a partir del ortoéster **B3b** (1.26 g, 1.9 mmol) siguiendo el *procedimiento general IX* (2h, t.a.). El crudo resultante se empleó en la siguiente reacción sin purificación previa.

Compuesto B5b.

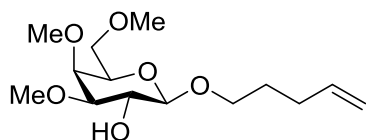
El derivado **B5b** se obtuvo siguiendo el *procedimiento general V*, por reacción del crudo **B4b**, NaH (60 %) (380 mg, 9.5 mmol) y MeI (0.47 mL, 7.6 mmol) en THF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para obtener el derivado **B5b** (470 mg, 63 %, rendimiento general). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.63-7.58 (m, 2H, Ar), 7.39-7.33 (m, 3H, Ar), 5.90 (d, J = 4.8 Hz, 1H, H-1), 5.75 (ddt, J = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, CH=CH₂), 4.97-4.89 (m, 2H, CH=CH₂), 4.43 (dd, J = 7.0, 4.8 Hz, 1H, H-2), 3.92 (td, J = 6.7, 1.7 Hz, 1H, H-5), 3.61-3.53 (m, 3H, H-4 y 2 H-6), 3.51 (s, 3H, OCH₃), 3.50-3.41 (m, 1H, OCH₂), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.15 (dd, J = 7.0, 2.8 Hz, 1H, H-3), 2.12-2.03 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.68-1.59 (m, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 138.9 (C, Ar), 138.2 (CH=CH₂), 129.1 (CH, Ar), 128.3 (2 CH, Ar), 126.0 (2 CH, Ar), 119.5 (O-C-O), 114.9 (CH=CH₂), 98.6 (CH-1), 81.1 (CH-3), 77.2 (CH-2), 74.2 (CH-4), 72.2 (CH-5), 70.8 (CH₂-6), 62.7 (O-CH₂), 61.2 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 57.8 (OCH₃), 30.4 (OCH₂-CH₂), 28.82 (CH₂-CH=CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₃₀NaO₇ [M+Na]⁺: 417.18837 encontrada: 417.18826.

Compuesto B6b.



Una disolución del ortoéster **B5b** (490 mg, 1.24 mmol) en DCM anhidro (10 mL) se enfrió a -20 °C y se trató con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.15 mL, 1.24 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min, se adicionó Et_3N para detener la reacción y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 \rightarrow 6:4) para dar el glicósido de pentenilo **B6b** (361 mg, 74 %). **^1H RMN (400 MHz, CDCl_3)** δ 8.09-8.03 (m, 2H, Ar), 7.58-7.52 (m, 1H, Ar), 7.46-7.41 (m, 2H, Ar), 5.68-5.57 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.45 (dd, $J = 10.1, 7.9$ Hz, 1H, H-2), 4.81-4.75 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.49 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H-1), 3.85 (dt, $J = 9.6, 6.1$ Hz, 1H, OCH_{2a}), 3.76 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, H-4), 3.71-3.64 (m, 1H, H-6_a), 3.64-3.55 (m, 2H, H-6_b, H-5), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 3.48-3.39 (m, 2H, OCH_{2b} , H-3), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.41 (s, 3H, OCH_3), 2.00-1.87 (m, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.62-1.49 (m, 2H, OCH_2-CH_2); **^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3)** δ 165.4 (C=O), 138.2 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 132.9 (CH, Ar), 130.5 (C, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 128.4 (2 CH, Ar), 114.7 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 101.5 (CH-1), 82.9 (CH-3), 74.6 (CH-4), 73.5 (CH-5), 72.1 (CH-2), 70.9 (CH-6), 68.8 (OCH_2), 61.4 (OCH_3), 59.4 (OCH_3), 58.3 (OCH_3), 30.0 ($\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 28.7 (OCH_2-CH_2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 313.16216, encontrada: 316.16268.

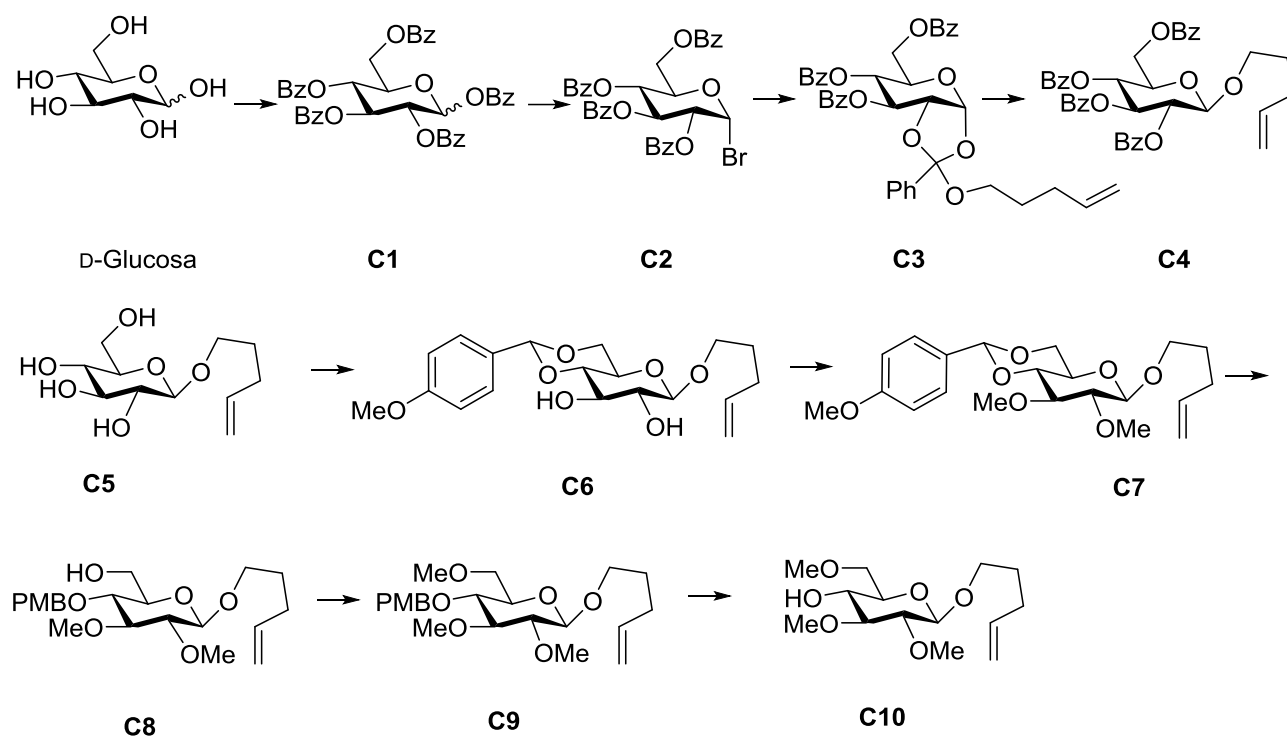
Compuesto B7b.



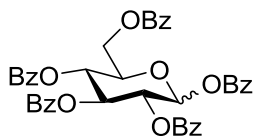
Dicho compuesto se sintetizó a partir del derivado **B6b** (110 mg, 0.28 mmol), siguiendo el *procedimiento general IX* (3h, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4) para dar el alcohol **B7b** (70 mg, 86 %). **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 5.80 (ddt, $J = 16.9, 10.2, 6.6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.01-4.95 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.21 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 3.89 (dt, $J = 9.6, 6.6$ Hz, 1H, OCH_{2a}), 3.75 (ddd, $J = 9.8, 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-2), 3.69 (dd, $J = 3.1, 0.9$ Hz, 1H, H-4), 3.66-3.59 (m, 1H, H-6_a), 3.55 (s, 3H, OCH_3), 3.54-3.46 (m, 3H, H-6_b, OCH_{2b} , H-5),

3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (dd, $J = 9.8, 2.9$ Hz, 1H, H-3), 2.40 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, OH), 2.17-2.08 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.72 (m, 2H, OCH₂-CH₂); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 138.4 (CH=CH₂), 114.9 (CH=CH₂), 103.2 (CH-1), 84.0 (CH-3), 74.1 (CH-4), 73.5 (CH-5), 71.1 (CH-2), 70.9 (CH₂-6), 69.3 (OCH₂CH₂), 61.2 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 58.0 (OCH₃), 30.3 (CH₂-CH=CH₂), 28.8 (OCH₂-CH₂). HRMS (ESI) m/z calculada para C₁₄H₂₆NaO₆ [M+Na]⁺: 313.16216, encontrada: 313.16268.

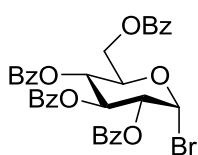
5.3.2.3. Síntesis del aceptor de glicosilo C10.



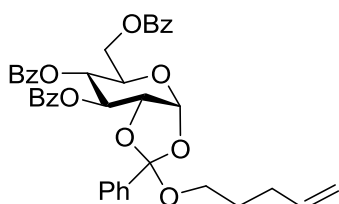
Esquema 5.4.- Ruta sintética para la preparación del aceptor de glicosilo **C10**, empleado en la preparación de los disacáridos **6** y **7**.

Compuesto C1.

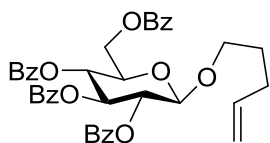
Este compuesto se sintetizó a partir de D-glucosa (5 g, 27.8 mmol) y cloruro de benzoílo (19 mL, 166.8 mmol) siguiendo el *procedimiento general X* (24 h, t.a.). El crudo se recrystalizó en etanol para dar el derivado **C1**. (18.5 g, 95 %).

Compuesto C2.

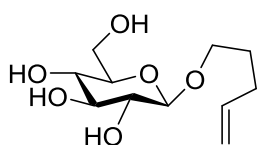
A una disolución del compuesto **C1** (18.5 g, 26.4 mmol) en DCM anhidro (300 mL) se le añadió Ac_2O (7.5 mL). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió lentamente una disolución de HBr al 30 % en AcOH (50 mL). La mezcla final se dejó templar a temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. Pasado este tiempo, se diluyó con DCM (250 mL) y agua/hielo (200 mL) y la fase orgánica se lavó con agua (200 mL), una disolución saturada de NaHCO_3 (3 x 150 mL) y NaCl (200 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 anhidro, se filtraron y se llevaron a sequedad bajo presión reducida. El residuo resultante se usó en la siguiente etapa sin purificación previa (15.3 g, 88 %).

Compuesto C3.

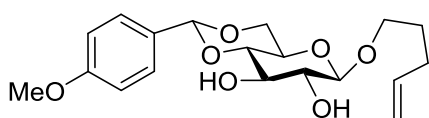
A una disolución de **C2** (15.3 g, 23.2 mmol) en DCM anhidro (75 mL) se le añadió 2,6-lutidina (4 mL, 34.8 mmol), 4-penten-1-ol (2.8 mL, 27.8 mmol) y yoduro de tetrabutylamonio (430 mg, 1.16 mmol). La reacción se agitó a reflujo, bajo atmósfera de argón, durante 24 h. A continuación, se lavó con agua (3 x 100 mL) y salmuera (50 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a vacío. El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1) para rendir el ortoéster de pentenilo **C3** (13.2 g, 86 %).¹²¹

Compuesto C4.

Una disolución del ortoéster **C3** (8.28 g, 12.9 mmol) en DCM anhidro (30 mL), bajo atmósfera de argón, se enfrió a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se trató con $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (2.6 mL, 20.9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h hasta ver la completa desaparición del producto de partida por TLC. A continuación, se diluyó con DCM (200 mL), y se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 (150 mL) y salmuera (150 mL). Por último, la fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para dar el glicósido de pentenilo **C4**¹²² (5.89 g, 68 %).

Compuesto C5.

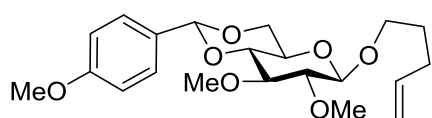
Dicho compuesto se sintetizó a partir del derivado **C4** (1.45 g, 2.18 mmol), siguiendo el *procedimiento general IX* (24 h, t.a.). Una vez observada la completa desaparición del producto de partida por TLC, se eliminó el disolvente a vacío y el crudo resultante se empleó en la siguiente reacción sin purificación previa.

Compuesto C6.

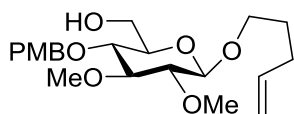
Dicho compuesto se sintetizó a partir del glicósido **C5** (486 mg, 1.96 mmol) y *p*-metoxibenzaldehído dimetilacetal (0.4 mL, 2.35 mmol), de acuerdo con el *procedimiento general VI* (3 h, t.a.). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 5:5) para dar el derivado **C6** (550 mg, 80 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, Ar), 6.96-6.75 (m, 2H, Ar), 5.82 (ddt, $J = 16.9, 10.2, 6.6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.50 (s, 1H, O-CH-O), 5.05 (dq, $J = 17.2, 1.7$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_{2a}$), 4.99 (ddt, $J = 10.2, 2.0, 1.3$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_{2b}$), 4.39 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, $J = 10.5, 4.9$ Hz, 1H, H-6a),

3.92 (dt, $J = 9.5, 6.6$ Hz, 1H, O-CH_{2a}), 3.83 (dd, $J = 9.1, 2.3$ Hz, 1H, H-3), 3.80 (s, 3H, OCH₃-PMB), 3.80-3.73 (t, $J = 10.5$ Hz, 1H, H-6_b), 3.63-3.40 (m, 4H, O-CH_{2b}, H-4, H-2, H-5), 2.70 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H, OH), 2.52 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, OH), 2.15 (qt, $J = 7.3, 1.5$ Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.57 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 160.4 (C, Ar), 138.1 (CH=CH₂), 129.6 (C, Ar), 127.7 (2 CH, Ar), 115.2 (CH=CH₂), 113.9 (2 CH, Ar), 103.3 (CH-1), 102.0 (O-CH-O), 80.7 (CH-4), 74.8 (CH-2), 73.3 (CH-3), 70.0 (OCH₂), 68.8 (CH₂-6), 66.6 (CH-5), 55.5 (OCH₃-PMB), 30.3 (CH₂-CH=CH₂), 28.9 (OCH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₂₇O₇ [M+H]⁺: 367.17513, encontrada: 367.17501.

Compuesto C7.

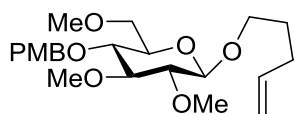


El diol **C6** (550 mg, 1.5 mmol) se metiló de acuerdo con el *procedimiento general V* (13 h, t.a.), por reacción con NaH (60 %) (240 mg, 6 mmol) y MeI (0.28 mL, 4.50 mmol) en DMF. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para dar el derivado **C7** (566 mg, 96 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.45-7.37 (m, 2H, Ar), 6.92-6.85 (m, 2H, Ar), 5.82 (ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.7$ Hz, 1H, CH=CH₂), 5.49 (s, 1H, O-CH-O), 5.04 (dq, $J = 17.0, 1.7$ Hz, 1H, CH=CH_{2a}), 4.98 (ddt, $J = 10.2, 2.1, 1.2$ Hz, 1H, CH=CH_{2b}), 4.37 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 4.30 (dd, $J = 10.5, 5.0$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.90 (dt, $J = 9.6, 6.4$ Hz, 1H, OCH_{2a}), 3.80 (s, 3H, OCH₃-PMB), 3.74 (t, $J = 10.5$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.58-3.51 (m, 2H, O-CH_{2b}, H-4), 3.40-3.31 (m, 2H, H-3, H-5), 3.07 (dd, $J = 8.7, 7.7$ Hz, 1H, H-2), 2.16 (qt, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.82-1.65 (m, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 160.2 (C, Ar), 138.1 (CH=CH₂), 130.0 (C, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 115.1 (CH=CH₂), 113.7 (2 CH, Ar), 104.1 (CH-1), 101.3 (O-CH-O), 84.0 (CH-2), 82.8 (CH-3), 81.4 (CH-4), 69.8 (O-CH₂), 68.9 (CH₂-6), 66.1 (CH-5), 61.2 (OCH₃), 61.1 (OCH₃), 55.4 (OCH₃-PMB), 30.2 (CH₂-CH=CH₂), 29.1 (OCH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₃₁O₇ [M+H]⁺: 395.20643 encontrada: 395.20468.

Compuesto C8.

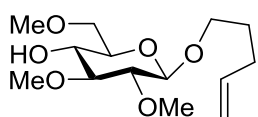
A una disolución del compuesto **C7** (91 mg, 0.23 mmol) en DMF anhidra (2.3 mL) se le añadieron tamices moleculares de 3 Å y se enfrió a 0 °C. A continuación, se trató con cianoborohidruro sódico (145 mg 2.31 mmol) y TFA (260 µL). La reacción se dejó templar hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Transcurrido este tiempo, se diluyó con DCM y se filtró sobre celita®. Por último, el filtrado se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ y la fase orgánica se secó, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 6:4) para rendir el alcohol **C8** (72 mg, 79 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.18 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, Ar), 6.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar), 5.75 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, CH=CH₂), 4.96 (dq, *J* = 16.9, 1.8 Hz, 1H, CH=CH_{2a}), 4.90 (ddt, *J* = 10.2, 2.2, 1.3 Hz, 1H, CH=CH_{2b}), 4.44 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H, OCH₂-PMB), 4.20 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-1), 3.83 (dt, *J* = 9.6, 6.3 Hz, 1H, O-CH_{2a}), 3.73 (s, 3H, OCH₃-PMB), 3.63 (qd, *J* = 10.3, 4.8 Hz, 2H, CH₂-6), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (s, 3H, OCH₃), 3.48-3.38 (m, 2H, O-CH_{2b}, H-4), 3.33 (dt, *J* = 9.5, 4.8 Hz, 1H, H-5), 3.04 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-3), 2.95 (dd, *J* = 9.2, 7.6 Hz, 1H, H-2), 2.75 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, OH), 2.08 (ddt, *J* = 9.9, 8.3, 4.2 Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.65 (dtd, *J* = 14.3, 7.8, 7.4, 5.6 Hz, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 159.5 (C, Ar), 138.2 (CH=CH₂), 130.01 (C, Ar), 129.5 (2 CH, Ar), 115.0 (CH=CH₂), 114.0 (2 CH, Ar), 103.7 (CH-1), 85.9 (CH-3), 83.6 (CH-2), 73.8 (CH-5), 73.5 (OCH₂-PMB), 72.0 (CH-4), 70.4 (CH₂-6), 69.4 (O-CH₂), 61.0 (OCH₃), 60.4 (OCH₃), 55.4 (OCH₃-PMB), 30.3 (CH₂-CH=CH₂), 29.08 (OCH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₃₂NaO₇[M+Na]⁺: 419.20382, encontrada: 419.20402.

Compuesto C9.



Este compuesto se preparó por reacción de **C8** (310 mg, 0.78 mmol), NaH (60 %) (63 mg, 1.56 mmol) y MeI (70 μ L, 1.17 mmol) en DMF anhidra, siguiendo las directrices del *procedimiento general V* (10 h, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hex/AcOEt 9:1 \rightarrow 6:4) para dar el derivado **C9** (310 mg, 97 %): **^1H RMN (400 MHz, CDCl_3)** δ 7.26 (s, 2H, Ar), 6.90-6.83 (m, 2H, Ar), 5.82 (ddt, $J = 16.9, 10.2, 6.7$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.03 (dq, $J = 16.9, 2.2$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_{2a}$), 4.97 (ddt, $J = 10.2, 2.2, 1.2$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_{2b}$), 4.56 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, CH_{2a} -PMB), 4.49 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, CH_{2b} -PMB), 4.21 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 3.91 (dt, $J = 9.6, 6.3$ Hz, 1H, OCH_{2a}), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (dd, $J = 10.8, 2.0$ Hz, 1H, H-6_a), 3.65-3.59 (m, 1H, H-6_b), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 3.58 (s, 3H, OCH_3), 3.55-3.48 (m, 1H, OCH_{2b}), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.29 (ddd, $J = 7.9, 5.6, 2.0$ Hz, 1H, H-5), 3.16-3.11 (m, 2H, H-3, H-4), 3.03-2.95 (m, 1H, H-2), 2.23-2.09 (m, 2H, CH_2 -CH=CH₂), 1.81-1.67 (m, 2H, OCH_2 -CH₂); **^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3)** δ 159.3 (C, Ar), 138.3 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 130.6 (C, Ar), 129.4 (2 CH, Ar), 115.0 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 113.9 (2 CH, Ar), 103.5 (CH-1), 86.7 (CH-3), 84.0 (CH-2), 79.8 (CH-4), 74.9 (CH-5), 73.3 (OCH_2 -Ar), 69.4 (OCH_2), 69.0 (CH₂-6), 60.9 (OCH_3), 60.6 (OCH_3), 60.5 (OCH_3), 55.4 (OCH_3), 30.3 (CH_2 -CH=CH₂), 29.09 (OCH_2 -CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{NO}_7[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 428.26483, encontrada: 428.26341.

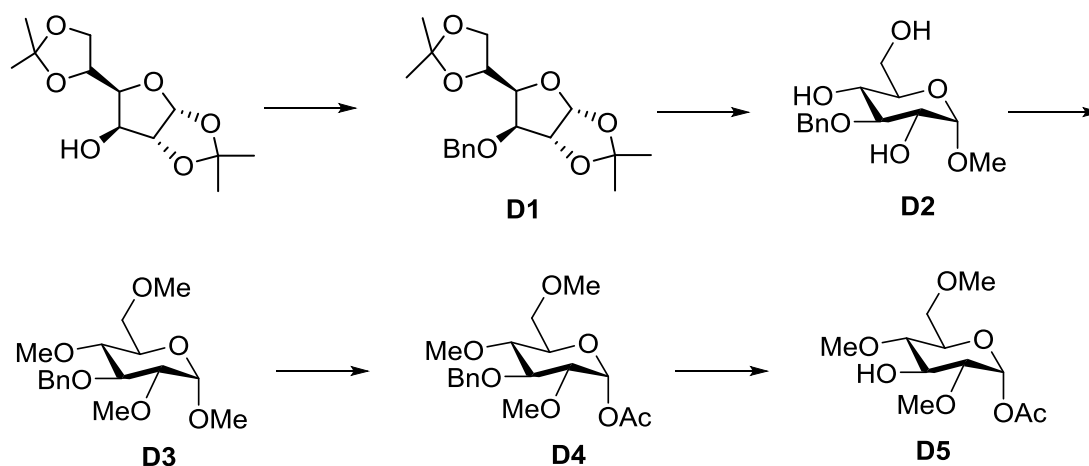
Compuesto C10.



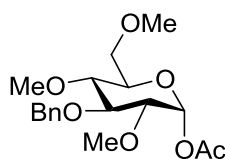
A una disolución del derivado **C9** (309 mg, 0.75 mmol) en DCM anhidro (11 mL), enfriada a -20°C , se le añadió TFA (4 mL). Pasados 20 minutos, se añadió MeOH (3 mL) y la mezcla de reacción se agitó otros 30 minutos. A continuación, se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 (x 3) y con salmuera, se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se concentró a vacío. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 8:2) para rendir el compuesto **C10** (180 mg, 0.66 mmol, 87 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.81 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, CH=CH₂), 5.03 (dq, *J* = 17.2, 1.7 Hz, 1H, CH=CH_{2a}), 4.97 (ddt, *J* = 10.2, 2.1, 1.3 Hz, 1H, CH=CH_{2b}), 4.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-1), 3.92-3.80 (m, 2H, OCH₂, H-6_a), 3.70 (dd, *J* = 11.8, 4.6 Hz, 1H, H-6_b), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.53-3.43 (m, 3H, OCH₃), 3.22 (dddd, *J* = 10.2, 5.4, 3.5, 1.9 Hz, 1H, H-5), 3.18-3.12 (m, 2H, H-3, H-4), 2.99-2.91 (m, 1H, H-2), 2.15 (dtq, *J* = 10.4, 7.0, 1.5 Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.89 (s, 1H, OH), 1.77-1.66 (m, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 138.1 (CH=CH₂), 115.2 (CH=CH₂), 103.6 (CH-1), 86.5 (CH-3), 84.0 (CH-2), 79.7 (CH-4), 75.0 (CH-5), 69.6 (O-CH₂), 62.3 (CH₂-6), 61.0 (OCH₃), 60.7 (OCH₃), 60.6 (OCH₃), 30.2 (CH₂-CH₂=CH), 29.0 (OCH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₄H₂₆NaO₆[M+Na]⁺: 313.16216, encontrada: 313.16244.

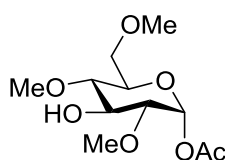
5.3.2.4. Síntesis del aceptor de glicosilo D5.



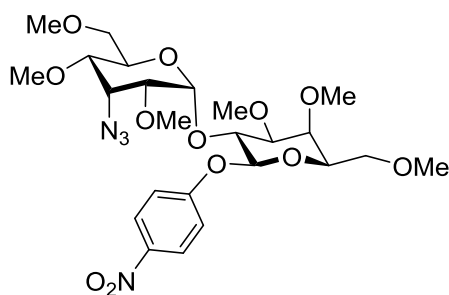
Esquema 5.5.- Ruta sintética para la preparación del aceptor de glicosilo **D5**, empleado en la preparación de los disacáridos **8** y **9**.

Compuesto D4.

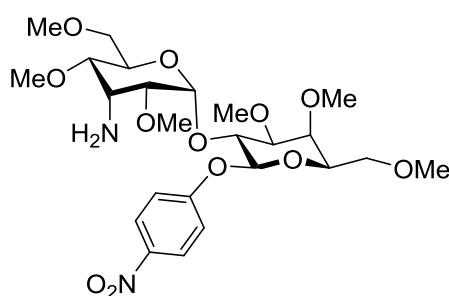
Una disolución del derivado **D3**¹²³ (1.88 g, 5.77 mmol) en Ac₂O (28 mL, 5 mL/mmol) enfriada a -20 °C con un baño de sal y hielo, fue tratada con H₂SO₄ concentrado (0.29 mL, 50 µL/mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a dicha temperatura durante 1 h antes de ser detenida por la adición de NaHCO₃ sólido. La suspensión se evaporó a vacío y el residuo resultante se diluyó con AcOEt y una disolución saturada de NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo una vez más con AcOEt y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 7:3) para rendir el compuesto **D4** (1.29 g, 63 % con una relación α:β 5:1). El derivado **D4** se utilizó en la siguiente etapa como una mezcla de anómeros. Picos seleccionados para el **anómero α**: ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.46-7.27 (m, 5H, Ar), 6.34 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.89 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, OCH_{2a}-Bn), 4.79 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, OCH_{2b}-Bn), 3.80-3.67 (m, 2H), 3.64-3.52 (m, 5H), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.43-3.33 (m, 5H), 2.14 (s, 3H, OAc). Picos seleccionados para el **anómero β**: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 5.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 0.2H, H-1), 2.13 (s, 0.6H, OAc).

Compuesto D5.

Una disolución del derivado **D4** (708 mg, 2.0 mmol) en AcOEt (30 mL) fue tratada con Pd(OH)₂/C (20 %) (141 mg, 20 % w/w). El matraz se purgó dos veces (vacío/hidrógeno) y la suspensión resultante se agitó durante 16 h bajo atmósfera de hidrógeno (globo). A continuación, la mezcla se filtró sobre celita®, se lavó con AcOEt y se llevó a sequedad. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4→5:5) para rendir el aceptor **D5** (440 mg, 83 %)

Compuesto B8.

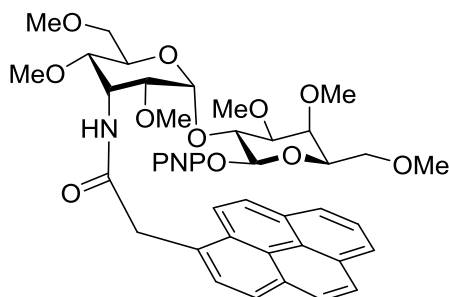
El tricloroacetimidato **A9** (240 mg, 0.61 mmol) y el aceptor **B7a** (250 mg, 0.73 mmol) se acoplaron siguiendo el *procedimiento general I* (-78 °C → -65 °C, 90 min). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 5:5) para dar el α -glicósido **B8** (150 mg, 44 %) junto con el correspondiente anómero β (92 mg, 27 %). Para **B8**: $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.23-8.10 (m, 2H, Ar), 7.11-6.99 (m, 2H, Ar), 5.45 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 5.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-1), 4.41 (t, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.28 (dt, $J = 10.0, 2.2$ Hz, 1H, H-5'), 4.19 (dd, $J = 9.8, 7.6$ Hz, 1H, H-2), 3.75 (dd, $J = 3.0, 0.9$ Hz, 1H, H-4), 3.70-3.67 (m, 2H, H-5, H-6a'), 3.65-3.61 (m, 1H, H-6a), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 3.58-3.55 (m, 1H, H-6b), 3.52 (s, 3H, OCH_3), 3.49 (dd, $J = 10.0, 4.0$ Hz, 1H, H-4'), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.43-3.39 (m, 2H, H-6b', H-3), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.38 (s, 3H, OCH_3), 3.34 (t, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-2'), 3.18 (s, 3H, OCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 162.3 (C, Ar), 142.8 (C, Ar), 125.8 (2 CH, Ar), 116.6 (2 CH, Ar), 100.9 (CH-1), 95.7 (CH-1'), 82.9 (CH-3), 77.0 (CH-2'), 75.5 (CH-4'), 74.1 (CH-4), 74.0 (CH-2), 70.7 (CH-5), 70.5 (CH₂-6), 70.4 (CH₂-6'), 66.2 (CH-5'), 61.3 (OCH_3), 59.4 (OCH_3), 59.3 (OCH_3), 58.0 (OCH_3), 57.6 (OCH_3), 57.4 (CH-3'), 57.2 (OCH_3). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 590.2668, encontrada: 590.26832.

Compuesto B9.

El derivado **B9** se preparó a partir de la azida **B8** (106 mg, 0.18 mmol) y NaOH siguiendo el *procedimiento general III* (5 h, 50 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH 99:1 → 95:5) para rendir el compuesto **B9** (70 mg, 72 %). La presencia de la amina fue confirmada mediante

un revelado selectivo en TLC con ninhidrina. Este compuesto fue usado en el siguiente paso de reacción sin caracterización. **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{24}H_{39}N_2O_{12}$ $[M+H]^+$: 547.24975, encontrada: 547.24991.

Compuesto 1.

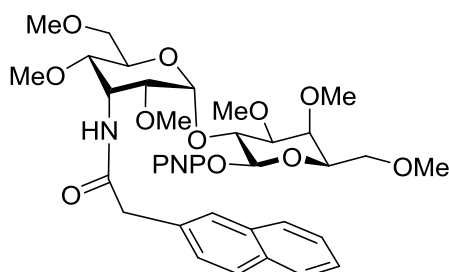


El derivado **1** se preparó a partir de la amina **B9** (22 mg, 0.04 mmol) y ácido 1-pirenoacético (11 mg, 0.044 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (1 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM \rightarrow DCM/MeOH

99:1) para dar la amida **1** (21 mg, 63 %). **1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.29 (dd, J = 6.8, 2.0 Hz, 1H, Ar), 8.18-8.06 (m, 6H, Ar), 8.01-7.88 (m, 4H, Ar), 6.29 (d, J = 9.2 Hz, 1H, NH), 6.26-6.15 (m, 2H, Ar), 5.18 (dt, J = 9.0, 4.7 Hz, 1H, H-3'), 4.83 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H-1'), 4.39 (d, J = 17.3 Hz, 1H, $CH_{2a}-C=O$), 4.27 (d, J = 17.3 Hz, 1H, $CH_{2a}-C=O$), 3.56-3.53 (m, 1H, H-6a'), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.53-3.50 (m, 1H, H-5'), 3.45-3.43 (m, 1H, H-6b'), 3.41 (s, 3H, OCH_3), 3.34 (s, 3H, OCH_3), 3.34-3.30 (m, 2H, H-2, H-4'), 3.32 (s, 3H, OCH_3), 3.24 (dd, J = 9.1, 7.5 Hz, 1H, H-6a), 3.16 (dd, J = 4.7, 3.6 Hz, 1H, H-2'), 3.12-3.05 (m, 1H, H-6b), 3.03 (dd, J = 2.9, 0.9 Hz, 1H, H-4), 2.97 (s, 3H, OCH_3), 2.93 (s, 3H, OCH_3), 2.72 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H-1), 1.96-1.85 (m, 1H, H-5), 1.08 (dd, J = 9.9, 2.9 Hz, 1H, H-3); **^{13}C RMN (126 MHz, $CDCl_3$)** δ 171.8 (C=O), 161.5 (C, Ar), 142.4 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.5 (C, Ar), 129.8 (CH, Ar), 129.1 (C, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.1 (CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.2 (2 CH, Ar), 125.1 (C, Ar), 124.9 (CH, Ar), 124.5 (C, Ar), 124.2 (CH, Ar), 116.5 (2 CH, Ar), 99.8 (CH-1), 98.5 (CH-1'), 80.9 (CH-3), 76.0 (CH-4'), 74.6 (CH-2'), 74.2 (CH-2), 72.4 (CH-4), 72.3 (CH-5), 70.6 (CH_2-6'), 70.2 (CH_2-6), 66.4 (CH-5'), 61.1 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 57.8 (OCH_3), 56.4 (OCH_3), 56.04 (OCH_3), 45.1 (CH-3'), 42.9 ($CH_2-C=O$).

HRMS (ESI) m/z calculada para $C_{24}H_{49}N_2O_{13}$ $[M+H]^+$: 789.32292, encontrada: 789.32028.

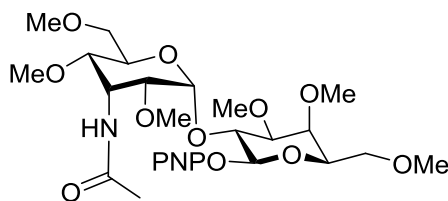
Compuesto 2.



El compuesto **2** se preparó a partir de la amina **B9** (21 mg, 0.038 mmol) y ácido 2-naftilacético (8 mg, 0.043 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (1 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM \rightarrow DCM/MeOH

99:1) para dar la amida **2** (9 mg, 33 %). **1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.30-8.14 (m, 2H, Ar), 7.86 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.81-7.67 (m, 3H, Ar), 7.54 (dddd, $J = 17.6, 8.1, 6.9, 1.4$ Hz, 2H, Ar), 7.38 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H, Ar), 6.98-6.77 (m, 2H, Ar), 6.47 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, NH), 5.14 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.14 (dt, $J = 9.1, 4.2, 4.2$ Hz, 1H, H-3'), 3.97 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 3.85 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, $CH_{2a}-C=O$), 3.80 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, $CH_{2b}-C=O$), 3.78-3.71 (m, 2H, H-5', H-2), 3.60 (dd, $J = 10.5, 2.8$ Hz, 1H, H-6_a'), 3.52 (dd, $J = 10.5, 2.2$ Hz, 1H, H-6_b'), 3.49 (s, 3H, OCH_3), 3.43-3.41 (m, 1H, H-6_a), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.39 (s, 3H, OCH_3), 3.38 (s, 3H, OCH_3), 3.38-3.29 (m, 1H, H-4'), 3.37-3.29 (m, 2H, H-6_b, H-2'), 3.24-3.21 (m, 1H, H-4), 3.15 (s, 3H, OCH_3), 3.13 (s, 3H, OCH_3), 2.52 (ddd, $J = 7.1, 6.0, 1.0$ Hz, 1H, H-5), 1.76 (dd, $J = 9.9, 2.8$ Hz, 1H, H-3); **^{13}C RMN (126 MHz, $CDCl_3$)** δ 171.7 (C=O), 162.0 (C, Ar), 142.9 (C, Ar), 133.7 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 132.4 (C, Ar), 129.0 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar), 127.97 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 126.9 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 125.6 (2 CH, Ar), 117.0 (2 CH, Ar), 100.6 (CH-1), 98.1 (CH-1'), 81.7 (CH-3), 75.1 (CH-2'), 74.9 (CH-2), 74.2 (CH-4'), 73.0 (CH-5), 72.7 (CH-4), 70.7 (CH₂-6'), 70.5 (CH₂-6), 66.6 (CH-5'), 61.1 (OCH_3), 59.6 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 57.7 (OCH_3), 56.6 (OCH_3), 56.5 (OCH_3), 45.3 (CH-3'), 44.4 (CH₂-CO). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{36}H_{47}N_2O_{13}$ $[M+H]^+$: 715.30727, encontrada: 715.30729.

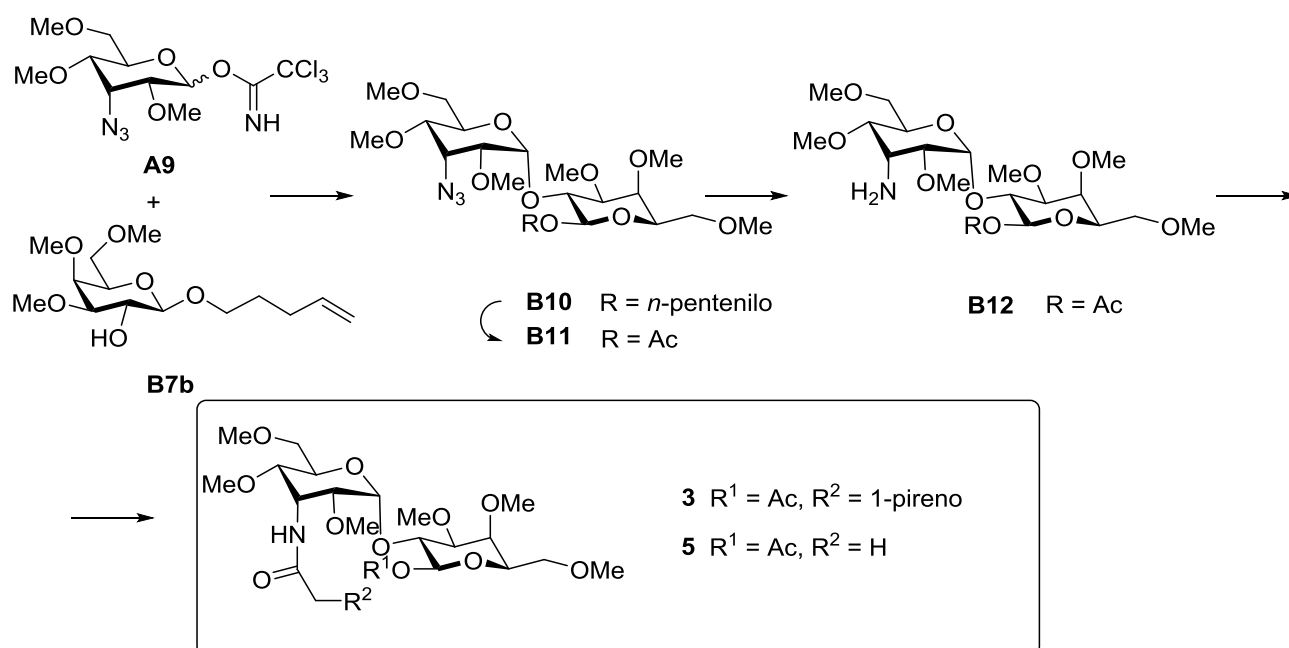
Compuesto 4.



El compuesto **4** se preparó a partir de la amina **B9** (17 mg, 0.031 mmol) y ácido acético (2 µL, 0.034 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (1.5 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en

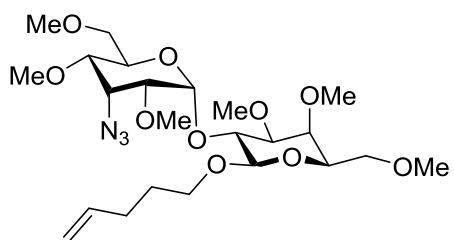
columna de gel de sílice (DCM \rightarrow DCM/MeOH 99:1) para dar la acetamida **4** (12 mg, 66 %). **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 8.27-8.05 (m, 2H, Ar), 7.12-6.95 (m, 2H, Ar), 6.57 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H, NH), 5.53 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1'), 5.17 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-1), 5.11 (dt, $J = 8.8, 4.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.39 (dd, $J = 10.1, 7.7$ Hz, 1H, H-2), 4.02 (dt, $J = 10.4, 2.5$ Hz, 1H, H-5'), 3.88 (dd, $J = 2.5, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 3.70 (td, $J = 6.8, 5.8, 1.1$ Hz, 1H, H-5) 3.67-3.61 (m, 2H, 2 H-6'), 3.60 (s, 3H, OCH_3), 3.58-3.54 (m, 2H, 2 H-6), 3.56 (s, 3H, OCH_3), 3.45 (dd, $J = 10.1, 2.5$ Hz, 1H, H-3), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.42 (s, 3H, OCH_3), 3.40 (s, 3H, OCH_3), 3.40-3.38 (m, 1H, H-4'), 3.37-3.33 (m, 1H, H-2'), 3.23 (s, 3H, OCH_3), 2.02 (s, 3H, OAc); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 170.5 (C=O), 161.4 (C, Ar), 143.0 (C, Ar), 125.8 (2 CH, Ar), 116.8 (2 CH, Ar), 100.9 (CH-1), 96.5 (CH-1'), 82.8 (CH-3), 75.5 (CH-2'), 74.3 (CH-4'), 74.0 (CH-5), 72.8 (CH-4), 71.4 (CH-2), 70.9 (CH_2 -6'), 70.5 (CH_2 -6), 66.6 (CH-5'), 61.1 (OCH_3), 59.6 (OCH_3), 59.5 (OCH_3), 57.5 (OCH_3), 57.2 (OCH_3), 57.1 (OCH_3), 44.7 (CH-3'), 24.1 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 589.26032, encontrada: 589.26089.

Disacáridos 3 y 5.



Esquema 5.7.- Ruta sintética para la preparación de los disacáridos (1→2): **3** y **5**.

Compuesto B10.

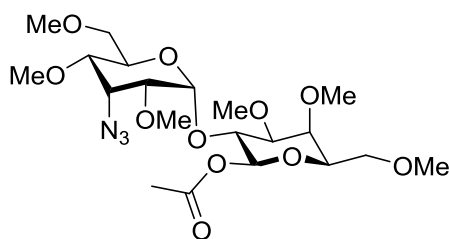


El tricloroacetimidato **A9** (70 mg, 0.24 mmol) y el aceptor **B7b** (148 mg, 0.29 mmol) se acoplaron siguiendo el *procedimiento general I* (-78 °C → -65 °C, 90 min). El residuo se purificó por

cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 5:5) para dar el α-glicósido **B10** (56 mg, 46 %) junto con el correspondiente anómero β (37 mg, 30 %). Para **B10**: ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 5.74 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, CH=CH₂), 5.44 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H-1'), 4.95 (dq, *J* = 17.2, 1.8 Hz, 1H, CH=CH_{2a}), 4.90 (dq, *J* = 10.3, 1.1 Hz, 1H, CH=CH_{2b}), 4.42-4.36 (m, 2H, H-1, H-3'), 4.27 (dt, *J* = 10.1, 2.3 Hz, 1H, H-5'), 3.90-3.79 (m, 2H, OCH_{2a}, H-2), 3.70-3.55 (m, 4H, 3H-6, H-4), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.52-3.46 (m, 3H, H-6, H-5, H-4'), 3.45 (s, 6H, 2 OCH₃), 3.42

(s, 3H, OCH₃), 3.42-3.40 (m, 1H, OCH_{2b}), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (t, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-2'), 3.24 (dd, $J = 9.9, 3.1$ Hz, 1H, H-3), 2.09-1.97 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.66-1.52 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, OCH₂-CH₂); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 138.3 (CH=CH₂), 114.7 (CH=CH₂), 103.6 (CH-1), 95.1 (CH-1'), 83.1 (CH-3), 77.0 (CH-2'), 75.8 (CH-5), 74.5 (CH-4), 73.8 (CH-2), 73.1 (CH-4'), 71.0 (CH₂-6), 70.5 (CH₂-6), 68.9 (OCH₂), 65.7 (CH-5'), 61.2 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 59.3 (OCH₃), 58.0 (CH-3'), 57.8 (OCH₃), 57.5 (OCH₃), 57.1 (OCH₃), 30.3 (CH₂-CH=CH₂), 29.0 (O-CH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₄₅N₄O₁₀ [M+NH₄]⁺: 537.31302, encontrada: 537.31242.

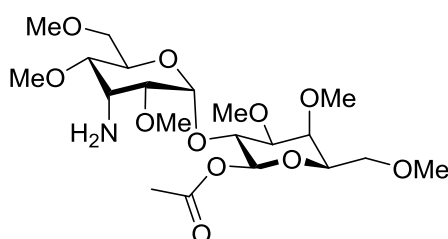
Compuesto B11.



A una disolución del glicósido de pentenilo **B10** (53 mg, 0,10 mmol) en DCM anhidro, se le añadieron tamices moleculares de 4 Å, se enfrió a 0 °C y se trató con una disolución de Br₂/DCM (0.55 mL a 0.2 M, 0.11 mmol). La mezcla se agitó durante 10 min a 0 °C, y 40 min a temperatura ambiente. Una vez que el análisis por TLC mostró el consumo total del producto de partida, se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se disolvió en ácido acético glacial (1 mL), se trató con Ac₂O (0.1 mL) y AgOAc (34 mg, 0.24 mmol), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente, protegida de la luz, durante la noche. A continuación, se diluyó con DCM, se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ y salmuera. Por último, se secó con MgSO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4) para rendir el compuesto **B11** (27 mg, 55 %). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 5.60 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-1), 5.21 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 4.44 (t, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-3'), 4.24 (dt, $J = 10.1, 2.2$ Hz, 1H, H-5'), 4.00 (dd, $J = 9.8, 8.1$ Hz, 1H, H-2), 3.74-3.59 (m, 4H, H-4, CH₂-6, H-5), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.55-3.50 (m, 2H, CH₂-6), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.46

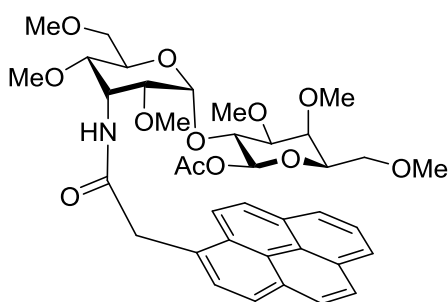
(s, 3H, OCH₃), 3.45-3.42 (m, 1H, H-4'), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.36-3.31 (m, 2H, H-2', H-3); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 168.9 (C=O), 96.0 (CH-1'), 94.8 (CH-1), 82.9 (CH-3), 75.5 (CH-4'), 74.0 (CH-2), 73.9 (CH-4), 73.6 (CH-5), 70.5 (CH₂-6), 70.1 (CH₂-6), 66.2 (CH-5'), 61.4 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 59.3 (OCH₃), 58.0 (OCH₃), 57.5 (OCH₃), 56.9 (CH-3'), 56.88 (OCH₃), 21.1 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₃₉N₄O₁₂ [M+NH₄]⁺: 511.26098, encontrada: 511.26137.

Compuesto B12.



El compuesto **B12** se preparó a partir de la azida **B11** (27 mg, 0.055 mmol) y H₂O siguiendo el *procedimiento general III* (48 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH 95:5) para rendir el derivado **B12** (14 mg, 95 %). La presencia de la amina fue confirmada mediante un revelado selectivo en TLC con ninhidrina. **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₃₇NNaO₁₁ [M+Na]⁺: 490.22588, encontrada: 490.22436.

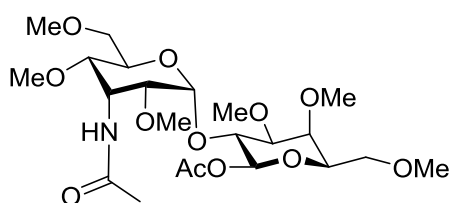
Compuesto 3.



El derivado **3** se preparó a partir de la amina **B12** (15.4 mg, 0.033 mmol) y ácido 1-pirenoacético (9.4 mg, 0.29 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (1 h, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM → DCM/MeOH 99:1 → 95:5) para dar la amida **3** (8 mg, 34 %). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8.28-8.20 (m, 5H, Ar), 8.12-8.06 (m, 2H, Ar), 8.06-7.99 (m, 2H, Ar), 6.26 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, NH), 5.23 (dt, *J* = 9.2, 4.4 Hz, 1H, H-3'), 4.62 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1'), 4.41 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.32 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 4.18 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-1), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.43 (dd, *J* = 10.3, 2.8 Hz, 1H,

H-6_{eq}'), 3.31-3.28 (m, 2H, H-4', H-6_{ax}'), 3.31 (s, 3H, OCH₃), 3.28 (s, 3H, OCH₃), 3.24-3.13 (m, 4H, 2 H-6, H-2', H-5'), 3.18 (s, 3H, OCH₃), 3.11 (dd, $J = 9.8, 8.3$ Hz, 1H, H-2), 2.70-2.42 (m, 1H, H-4), 2.07 (s, 3H, OCH₃), 2.07-2.04 (m, 1H, H-5), 1.95 (s, 3H, OAc), 0.46 (dd, $J = 9.8, 2.9$ Hz, 1H, H-3); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 171.8 (C=O), 168.9 (C=O), 131.3 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.2 (C, Ar), 129.8 (CH, Ar), 128.72 (C, Ar), 128.68 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 125.3, (CH, Ar) 125.0 (C, Ar), 124.67 (C, Ar), 123.73 (CH, Ar), 99.5 (CH-1'), 93.0 (CH-1), 80.8 (CH-3), 76.9 (CH-2), 74.7 (CH-2'), 74.1 (CH-4'), 70.5 (CH-5), 70.1 (CH-4), 66.4 (CH₂-6'), 60.9 (CH₂-6), 59.43 (CH-5'), 59.42 (OCH₃), 59.3 (OCH₃), 57.8 (OCH₃), 56.0 (OCH₃), 55.3 (OCH₃), 44.3 (OCH₃), 42.3 (CH-3'), 20.9 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₈H₄₇NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 732.29905, encontrada: 732.29982.

Compuesto 5.

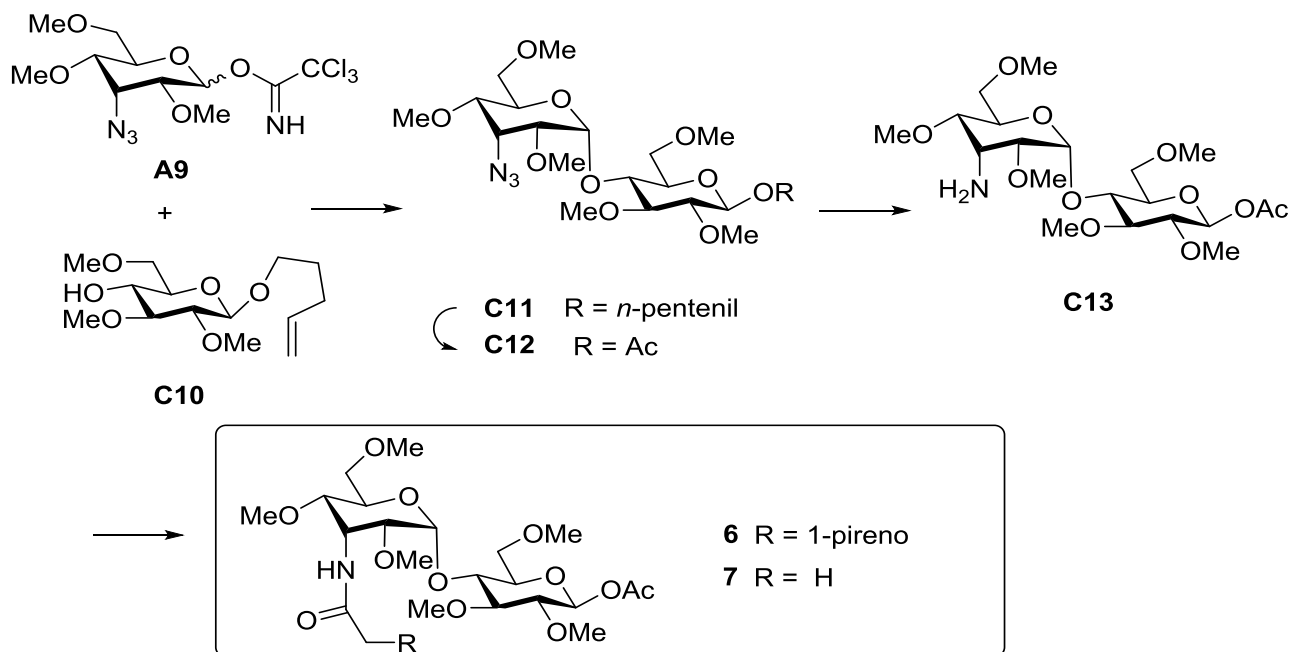


El compuesto **5** se preparó a partir de la amina **B12** (14 mg, 0.030 mmol) y ácido acético (2 μ L, 0.034 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (2 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (DCM/acetona 9:1) para dar la acetamida **5** (13 mg, 83 %). **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 6.50 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, NH), 5.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-1), 5.20 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1'), 5.10 (dt, $J = 8.8, 4.3$ Hz, 1H, H-3'), 4.10 (dd, $J = 10.0, 8.2$ Hz, 1H, H-2), 3.98-3.87 (m, 1H, H-5), 3.82 (dt, $J = 3.6, 1.8$ Hz, 1H, H-4), 3.67-3.60 (m, 3H, H-5', 2 H-6), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.54-3.47 (m, 2H, 2 H-6), 3.50 (s, 3H, OCH₃), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.35 (dd, $J = 10.4, 4.3$ Hz, 1H, H-4'), 3.33-3.31 (m, 2H, H-2', H-3), 3.29 (s, 3H, OCH₃), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 170.7 (C=O), 169.1 (C=O), 97.7 (CH-1'), 94.4 (CH-1), 83.1 (CH-3), 75.3 (CH-2'), 74.3 (CH-4'), 73.8 (CH-5'), 73.1 (CH-2), 72.8 (CH-4), 66.7 (CH-5), 61.2 (OCH₃), 59.5 (OCH₃), 57.6 (OCH₃), 57.2

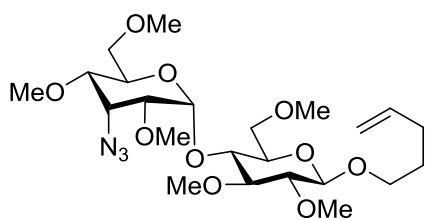
(OCH₃), 56.7 (OCH₃), 44.5 (OCH₃), 24.0 (OAc), 21.1 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂H₃₉NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 532.23645, encontrada: 532.23444.

Disacáridos 6 y 7.



Esquema 5.8.- Ruta sintética para la preparación de los disacáridos (1→4): 6 y 7.

Compuesto C11.

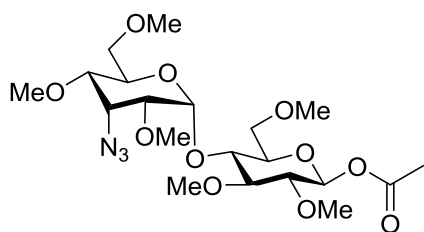


El tricloroacetimidato **A9** (1.07 g, 2.7 mmol) y el aceptor **C10** (600 mg, 2.08 mmol) se acoplaron siguiendo el *procedimiento general I* (-78 °C → -65 °C, 1 h). El residuo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 6:4) para dar el α-glicósido **C11** (470 mg, 33 %) junto con el correspondiente anómero β (310 mg, 27 %). Para **C11**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 5.82 (ddt, *J* = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1H, CH=CH₂), 5.10 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1'), 5.02 (dq, *J* = 16.9, 1.7 Hz, 1H, CH=CH_{2a}), 4.96 (ddt, *J* = 10.2, 2.2, 1.2 Hz, 1H, CH=CH_{2b}), 4.43 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-3'), 4.22 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-1), 4.01 (dt, *J* = 9.9, 2.6 Hz, 1H, H-5'), 3.89-3.82 (m, 2H, O-CH_{2a}, H-6_a), 3.75 (dd, *J* = 11.4, 1.9 Hz, 1H, H-6_b), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.65-3.58 (m, 2H, CH₂-6'), 3.57 (s, 3H,

OCH₃), 3.56 (s, 3H, OCH₃), 3.54-3.48 (m, 1H, O-CH_{2b}), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 3.41-3.39 (m, 2H, H-2', H3'), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.40-3.36 (m, 1H, H-5), 3.21 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-3), 3.15 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-4), 2.95 (dd, *J* = 8.9, 7.7 Hz, 1H, H-2), 2.12 (tdt, *J* = 7.7, 6.3, 1.5 Hz, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.73-1.62 (m, 2H, OCH₂-CH₂); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** 138.4 (CH=CH₂), 114.9 (CH=CH₂), 103.2 (CH-1), 96.4 (CH-1'), 86.6 (CH-4), 84.0 (CH-2), 79.6 (CH-3), 75.2 (CH-2'), 74.7 (CH-4'), 74.6 (CH-5), 70.9 (CH₂-6'), 69.0 (O-CH₂), 66.6 (CH₂-6), 66.0 (CH-5'), 60.8 (OCH₃), 60.6 (OCH₃), 60.5 (OCH₃), 59.4 (OCH₃), 57.4 (CH-3'), 57.3 (OCH₃), 57.2 (OCH₃), 30.3 (CH₂-CH=CH₂), 29.2 (OCH₂-CH₂). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₄₅N₄O₁₀ [M+NH₄]⁺: 537.3130 encontrada: 537.31323.

Compuesto C12.

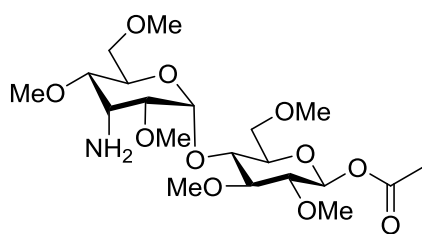


A una disolución del glicósido de pentenilo **C11** (211 mg, 0.41 mmol) en DCM anhidro, se le añadieron tamices moleculares de 4 Å, se enfrió a 0 °C y se trató con una disolución de Br₂/DCM (2.2 mL a 0.2 M, 0.45

mmol). La mezcla se agitó durante 10 minutos a 0 °C y 40 minutos a temperatura ambiente. Una vez que el análisis por TLC mostró el consumo total del producto de partida, se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se disolvió en ácido acético glacial (1 mL), se trató con Ac₂O (0.4 mL) y AgOAc (136 mg, 0.82 mmol), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A continuación, se diluyó y se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se lavó con NaHCO₃ y salmuera. Por último, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4) para rendir el compuesto **C12** (44 mg, 22 %, dos pasos). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.44 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1), 5.10 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H1'), 4.42 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H, H3'), 3.94-3.88 (m, 2H, H-5', H-6a), 3.73 (dd, *J* = 12.2, 1.9 Hz, 1H, H-6b), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (s, 3H, OCH₃),

3.59-3.54 (m, 2H, 2 H-6'), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.51-3.45 (m, 1H, H-4), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.42-3.39 (m, 2H, H-2', H-4'), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.38, 3.34 (m, 1H, H-5), 3.22 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-3), 3.10 (dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, 1H, H-2), 2.10 (s, 3H, OCH₃); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 96.6 (CH-1'), 94.0 (CH-1), 86.6 (CH-3), 82.5 (CH-2), 78.4 (CH-4), 78.0 (CH-2'), 75.5 (CH-4'), 75.0 (CH-5), 70.8 (CH₂-6'), 66.2 (CH-5'), 66.0 (CH₂-6), 60.8 (OCH₃), 60.6 (OCH₃), 60.5 (OCH₃), 59.5 (OCH₃), 57.4 (CH-3'), 57.3 (OCH₃), 57.1 (OCH₃), 21.2 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₃₅N₃NaO₁₁ [M+Na]⁺: 516.21638, encontrada: 516.2166.

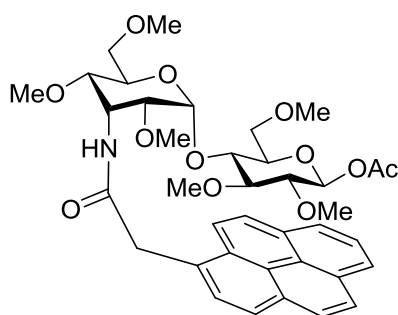
Compuesto C13.



La amina **C13** se preparó a partir de la azida **C12** (66 mg, 0.14 mmol) y H₂O (0.3 mL) siguiendo el *procedimiento general III* (48 h, t.a.). La presencia de la amina fue confirmada mediante un revelado

selectivo en TLC con ninhidrina. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH 99:1 → 95:5) para rendir **C13** (66 mg, 88 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₃₈NO₁₁ [M+H]⁺: 468.24394, encontrada: 468.24406.

Compuesto 6.

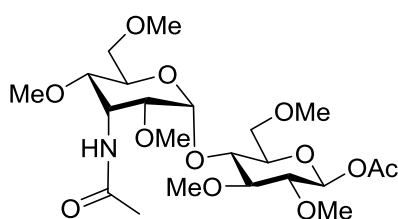


El disacárido **6** se preparó a partir de la amina **C13** (21 mg, 0.034 mmol) y ácido 1-pirenoacético (10 mg, 0.037 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (2h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (AcOEt/acetona/tolueno

8:1:1) para dar la amida **6** (21 mg, 87 %). **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.33 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, Ar), 8.24-8.18 (m, 1H, Ar), 8.18-8.12 (m, 4H, Ar), 8.12-8.08 (m, 1H, Ar), 8.05 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, Ar), 7.93 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, Ar), 6.88 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H,

NH), 5.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-1), 5.14 (dt, $J = 9.1, 4.2$ Hz, 1H, H-3'), 4.90 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-1'), 4.38 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.34 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H, CH_{2b}-C=O) 3.63-3.60 (m, 2H, H-6_a, H5'), 3.56 (s, 3H, OCH₃), 3.55-3.46 (m, 3H, 2 H6', H-6_b), 3.44 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 3.35 (s, 3H, OCH₃), 3.34-3.27 (m, 3H, H-2', H-4', H-5), 3.23 (s, 3H, OCH₃), 3.05 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-3), 3.01 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-2), 2.95 (dd, $J = 8.7, 8.1$ Hz, 1H, H-4), 1.81 (s, 3H, OAc); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 172.3 (C=O), 169.2 (C=O), 131.5 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 131.1 (C, Ar), 131.1 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.73 (C, Ar), 130.03 (C, Ar), 129.76 (C, Ar), 129.60 (C, Ar), 128.75 (CH, Ar), 128.55 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.7 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 126.2 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.5 (CH, Ar), 125.3 (CH, Ar), 125.2 (C, Ar), 125.1 (C, Ar), 125.1 (CH, Ar), 125.1 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 124.9 (C, Ar), 124.8 (C, Ar), 124.2 (CH, Ar), 123.2 (CH, Ar), 97.7 (CH-1'), 93.8 (CH-1), 86.3 (CH-3), 82.6 (CH-2), 79.6 (CH-4), 75.2 (CH-2'), 74.7 (CH-5), 74.4 (CH-4'), 71.2 (CH₂-6'), 67.0 (CH₂-6), 66.6 (CH-5') , 60.9 (OCH₃), 60.5 (OCH₃), 60.4 (OCH₃), 59.5 (OCH₃), 57.4 (OCH₃), 56.6 (OCH₃), 44.8 (CH-3'), 41.9 (CH₂-C=O), 20.9 (OAc). HRMS (ESI) m/z calculada para C₃₈H₄₇NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 732.29905, encontrada: 732.29908.

Compuesto 7.

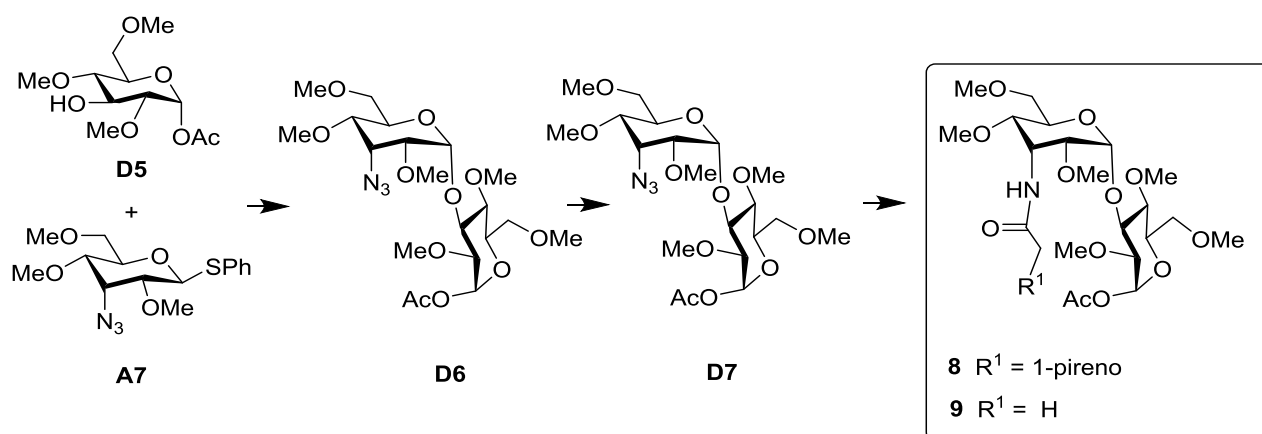


El disacárido **7** se preparó a partir de la amina **C13** (66 mg, 0.11 mmol) y ácido acético (7 μ L, 0.12 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (3h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de

gel de sílice (DCM/MeOH 95:5) para dar la amida **7** (29 mg, 54 %). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6.55 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, NH), 5.47 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-1), 5.11 (dt, $J = 9.1, 4.5$ Hz, 1H, H-3'), 4.96 (t, $J = 3.4$ Hz, 1H, H-1'), 3.81-3.77 (m, 2H, 2 H-6), 3.76-3.68 (m, 1H, H-5), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.62-3.57 (m, 3H, H-5', 2 H-6'), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (s, 3H, OCH₃), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (s, 3H,

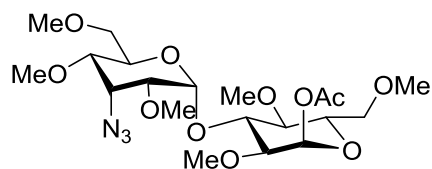
OCH₃), 3.34 (dd, $J = 4.5, 3.4$ Hz, 1H, H-2'), 3.30 (dd, $J = 10.4, 4.5$ Hz, 1H, H-4'), 3.23 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-4), 3.08 (dd, $J = 8.2, 7.7$ Hz, 1H, H-3), 3.04 (dd, $J = 9.8, 8.1$ Hz, 1H, H-2) 2.10 (s, 3H, OAc), 2.01 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 171.3 (C=O), 169.1 (C=O), 98.1 (CH-1'), 93.7 (CH-1), 86.5 (CH-4), 82.7 (CH-3), 80.0 (CH-2), 75.4 (CH-2'), 74.9 (CH-5'), 74.4 (CH-4'), 71.3 (CH₂-6'), 67.3 (CH₂-6), 66.6 (OCH₃), 61.0 (OCH₃), 60.7 (OCH₃), 59.5 (OCH₃), 57.46 (OCH₃), 56.90 (OCH₃), 44.59 (CH-3'), 23.74 (OAc), 21.11 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂H₃₉NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 532.23645, encontrada: 532.23602.

Disacáridos 8 y 9.



Esquema 5.9.- Ruta sintética para la preparación de los disacáridos (1→3): 8 y 9.

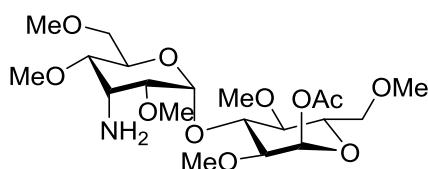
Compuesto D6.



El tioglicósido **A7** (102 mg, 0.30 mmol) y el aceptor **D5** (91 mg, 0.345 mmol) se acoplaron siguiendo el *procedimiento general II* (-78 °C → -65 °C, 1.5 h). El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4 → 4:6) para dar exclusivamente el disacárido α **D6** (100 mg, 65 %). **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 6.35 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 5.31 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H, H-1'), 4.50 (t, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-3'), 4.22 (dt, $J = 10.0, 2.2$ Hz, 1H, H-5), 3.90 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H, H-3), 3.72-3.43 (m, 7H), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.50 (s, 3H, OCH₃), 3.48

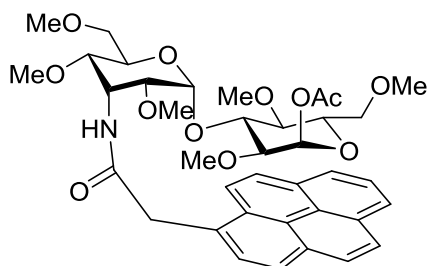
(s, 3H, OCH₃), 3.43-3.37 (m, 1H), 3.398 (s, 3H, OCH₃), 3.395 (s, 3H, OCH₃), 3.387 (s, 3H, OCH₃), 3.34 (dd, $J = 9.8, 3.6$ Hz, 1H, H-2), 2.11 (s, 3H, OAc); **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 96.8 (CH-1'), 89.3 (CH-1), 79.3 (CH), 79.1 (CH), 77.6 (CH), 76.9 (CH-3), 75.23 (CH), 72.6 (CH), 70.4 (2 CH₂-6,6'), 65.6 (CH-5), 60.1 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 59.0 (OCH₃), 58.6 (OCH₃), 57.2 (OCH₃), 57.1 (OCH₃), 56.3 (CH-3'), 20.9 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₃₅N₃NaO₁₁ [M+Na]⁺: 516.21638, encontrada: 516.21618.

Compuesto D7.



Una disolución del disacárido **D6** (100 mg, 0.20 mmol) en AcOEt (3 mL, 15 mL/mmol) se trató con PtO₂ (10 mg, 10 % w/w). El matraz se purgó dos veces (vacío/hidrógeno) y la suspensión resultante se agitó durante 6 h bajo atmósfera de hidrógeno (globo). Pasado este tiempo, se filtró sobre celita®, se lavó con AcOEt y se concentró a vacío. La presencia de la amina fue confirmada mediante un revelado selectivo en TLC con ninhidrina. El crudo resultante (**D7**) (78 mg, 84 %) se usó en la siguiente etapa sin purificación previa.

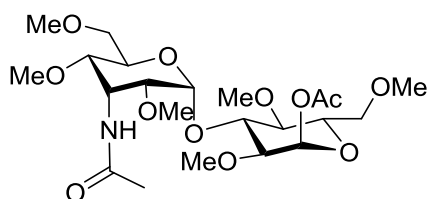
Compuesto 8.



El derivado **8** se preparó a partir de la amina **D7** (67 mg, 0.143 mmol) y ácido 1-pirenoacético (41 mg, 0.16 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (16 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH 95:5) para dar la amida **8** (56 mg, 55 %). **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 6.62 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, NH), 6.43 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H, H-1), 5.41 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1'), 5.13 (dt, $J = 9.0, 4.1$ Hz, 1H, H-3'), 4.09 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H, H-3), 3.98 (dt, $J = 10.3, 2.9$ Hz, 1H, H-5), 3.71 (dt, $J = 10.1, 2.7$ Hz, 1H, H-5'), 3.66-3.26 (m, 26H), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, NHAc); **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 96.8 (CH-1'), 89.3 (CH-1), 79.3

(CH), 79.1 (CH), 77.6 (CH), 76.9 (CH-3), 75.3 (CH), 72.6 (CH), 70.4 (2 CH₂-6,6'), 65.6 (CH-5), 60.1 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 59.0 (OCH₃), 58.6 (OCH₃), 57.2 (OCH₃), 57.1 (OCH₃), 56.2 (CH-3'), 20.9 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂H₃₉NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 532.23645, encontrada: 532.23609.

Compuesto 9.

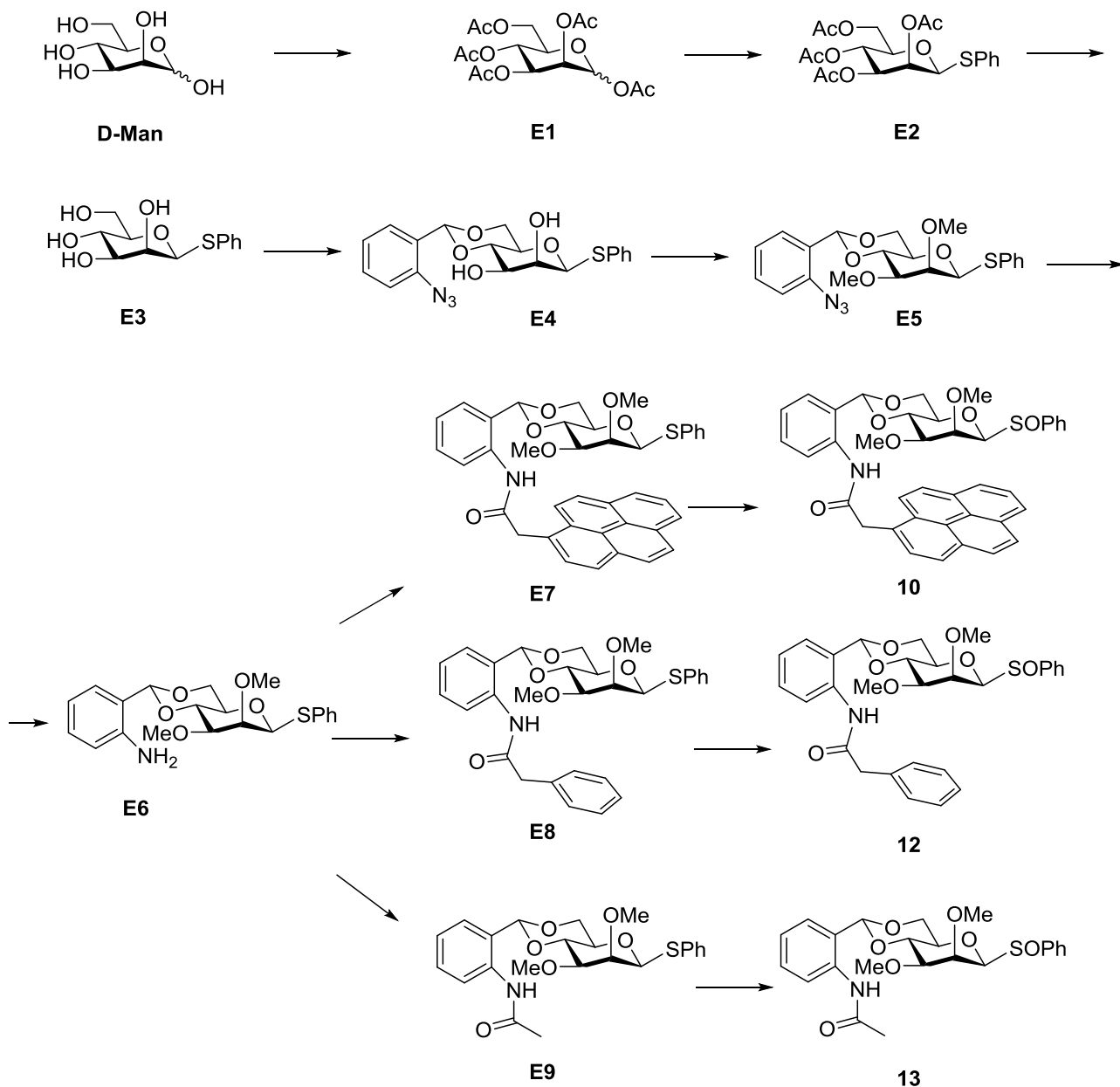


El derivado **9** se preparó a partir de la amina **D7** (12 mg, 0.02 mmol) y ácido acético (2 μL, 0.02 mmol) siguiendo el *procedimiento general IV* (16 h, t.a.). El residuo se purificó por cromatografía en columna de

gel de sílice (DCM/MeOH 95:5) para rendir la amida **9** (11 mg, 85 %). **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 6.35 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-1), 5.31 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H, H-1'), 4.50 (t, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-3'), 4.22 (dt, *J* = 10.0, 2.2 Hz, 1H, H-5), 3.90 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-3), 3.72-3.43 (m, 16H), 3.43-3.37 (m, 10H), 3.34 (dd, *J* = 9.8, 3.7 Hz, 1H, H-2), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, NHAc); **¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 170.5 (C=O), 169.2 (C=O), 96.8 (CH-1'), 89.3 (CH-1), 79.3 (CH), 79.1 (CH), 77.6 (CH), 76.9 (CH-3), 75.3 (CH), 72.6 (CH), 70.4 (2 CH₂-6,6'), 65.6 (CH-5), 60.1 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 59.0 (OCH₃), 58.6 (OCH₃), 57.2 (OCH₃), 57.1 (OCH₃), 56.3 (CH-3'), 24.0 (NHAc), 20.9 (OAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂H₃₉NNaO₁₂ [M+Na]⁺: 532.23645, encontrada: 532.23609.

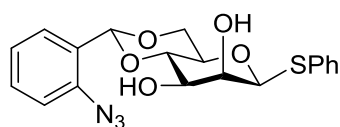
5.4.- SÍNTESIS DE LOS MODELOS TIPO II.

5.4.1.- DERIVADOS DE MANOSA (10, 12, 13).



Esquema 5.10.- Síntesis de los derivados de manosa 10, 12 y 13. Los derivados $10\text{-}^{13}\text{C}$ y $13\text{-}^{13}\text{C}$ fueron preparados de forma análoga empleando D-manosa-1- ^{13}C como material de partida.

Compuestos E4 y E4-¹³C.

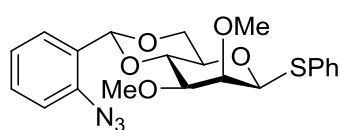


El derivado **E3**¹²⁴ (4.05 g, 14.8 mmol) y 1-azido-2-(dimetoximetil)benceno¹¹¹ (3.43 g, 0.12 mmol) se acoplaron siguiendo el *procedimiento general VI* (2 h, t.a.).

El precipitado obtenido se aisló por filtración y se lavó con hexano para rendir el compuesto **E4** (3.33 g, 56 %): **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.61 (dd, *J* = 8.2, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.55-7.47 (m, 2H, Ar), 7.39 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.36-7.28 (m, 3H, Ar), 7.16 (dd, *J* = 7.9, 6.6 Hz, 2H, Ar), 5.79 (s, 1H, O-CH-O), 4.94 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.31 (dd, *J* = 10.5, 5.0 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.30 (dd, *J* = 3.6, 1.3 Hz, 1H, H-2), 3.97 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-4), 3.89 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.85 (dd, *J* = 9.5, 3.6 Hz, 1H, H-3), 3.45 (td, *J* = 9.5, 5.0 Hz, 1H, H-5), 2.51 (s.a., 2H, 2 OH); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 137.7 (C, Ar), 135.6 (C, Ar), 134.2 (C, Ar), 131.6 (2 CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 118.3 (CH, Ar), 97.8 (O-CH-O), 88.0 (CH-1), 78.6 (CH-4), 72.5 (CH-2), 71.9 (CH-3), 71.1 (CH-5), 68.8 (CH₂-6). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₂₃N₄O₅S [M+NH₄]⁺: 419.13837, encontrada: 419.13728.

El compuesto marcado isotópicamente **E4-¹³C** se sintetizó de forma análoga a partir del derivado **E3-¹³C** (preparado a partir de D-manosa-1-¹³C) (670 mg, 1.67 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4) para rendir el compuesto **E4-¹³C** (670 mg, 94 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₈¹³CH₁₉N₃O₅S [M+H]⁺: 425.09712, encontrada: 425.09794.

Compuesto E5 y E5-¹³C.

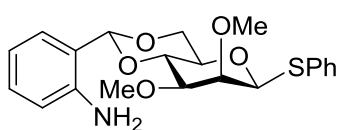


Este compuesto se preparó por reacción del diol **E4** (2.05 g, 5.11 mmol), NaH (60 %) (978 mg, 20.4 mmol) y MeI (0.95 mL, 15.3 mmol) en DMF anhidra, siguiendo las

directrices del *procedimiento general V* (toda la noche, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3) para dar el derivado **E5** (1.79 g, 82 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.61 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.54-7.47 (m, 2H, Ar), 7.40-7.27 (m, 4H, Ar), 7.14 (ddd, J = 7.1, 3.7, 2.5 Hz, 2H, Ar), 5.78 (s, 1H, O-CH-O), 4.86 (d, J = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.27 (dd, J = 9.8, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.14 (t, J = 9.8 Hz, 1H, H-4), 3.98 (dd, J = 3.0, 1.3 Hz, 1H, H-2), 3.92 (t, J = 9.8 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.48 (dd, J = 9.8, 3.0 Hz, 1H, H-3), 3.42 (td, J = 9.8, 4.9 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ : 137.6 (C, Ar), 134.7 (C, Ar), 131.3 (2 CH, Ar), 130.3 (CH, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 128.5 (C, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 124.8 (CH, Ar), 118.1 (CH, Ar), 97.4 (O-CH-O), 88.9 (CH-1), 82.0 (CH-3), 80.5 (CH-2), 78.6 (CH-4), 71.6 (CH-5), 68.6 (CH₂-6), 62.5 (OCH₃), 59.0 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₂₃N₃NaO₅S [M+Na⁺]: 452.12506, encontrada: 452.12552.

De forma análoga, a partir del derivado **E4-¹³C** (670 mg, 1.67 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **E5-¹³C** (590 mg, 82 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀¹³CH₂₃N₃NaO₅S [M+Na]⁺: 453.12842, encontrada: 453.12817.

Compuesto E6.



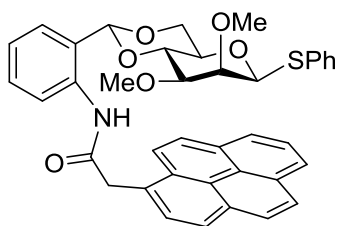
El derivado **E6** se preparó a partir de la azida **E5** (1.27 g, 2.97 mmol) y NaOH (6 mL) siguiendo el *procedimiento general III* (3 h, t.a.). El crudo de reacción se purificó por

cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3) para dar **E6** (1.17 g, 98 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.64-7.43 (m, 2H, Ar), 7.41-7.21 (m, 4H, Ar), 7.13 (td, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 6.86-6.37 (m, 2H, Ar), 5.57 (s, 1H, O-CH-O), 4.86 (d, J = 1.4 Hz, 1H, H-1), 4.33 (dd, J = 10.3, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.14 (t, J = 9.9 Hz, 1H, H-4), 3.98 (dd, J = 1.4, 3.0 Hz, 1H, H-2), 3.92 (t, J = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.47 (dd, J = 9.9, 3.0 Hz, 1H, H-3), 3.41 (m, 1H, H-5); **¹³C**

RMN (101 MHz, CDCl₃) δ 144.8 (C, Ar), 134.7 (CH, Ar), 131.3 (2 CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.1 (C, Ar), 121.4 (C, Ar), 117.9 (CH, Ar), 116.5 (CH, Ar), 101.5 (O-CH-O), 88.9 (CH-1), 82.0 (CH-3), 80.3 (CH-2), 78.3 (CH-4), 77.2 (CH-5), 68.5 (CH₂-6), 62.5 (OCH₃), 58.9 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₂₆NO₅S [M+H]⁺: 404.15262, encontrada: 404.15235.

De forma análoga, a partir del derivado **E5-¹³C** (580 mg, 1.35 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **E6-¹³C** (489 mg, 90 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀¹³CH₂₆NO₅S [M+H]⁺: 405.15597, encontrada: 405.15674.

Compuesto E7.

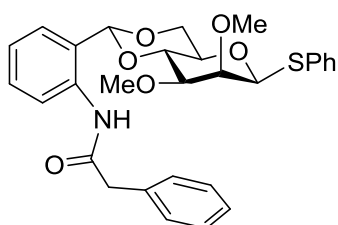


El derivado **E7** se preparó a partir de la amina **E6** (527 mg, 1.31 mmol) y ácido 1-pirenoacético (408 mg, 1.57 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (2 h, microondas, 60 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1) para obtener la amida **E7** (780 mg, 92 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.53 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar), 8.52 (s, 1H, NH), 8.32 (d, J = 9.3 Hz, 1H, Ar), 8.14 (td, J = 7.3, 6.5, 3.6 Hz, 3H, Ar), 8.08-7.92 (m, 3H, Ar), 7.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.63-7.56 (m, 2H, Ar), 7.55-7.49 (m, 4H, Ar), 7.40-7.31 (m, 1H, Ar), 7.09 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.04-6.95 (m, 1H, Ar), 5.05 (s, 1H, O-CH-O), 4.54 (d, J = 16.6 Hz, 1H, CH_{2a}C=O), 4.39 (d, J = 16.6 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.77 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H-1), 3.57-3.48 (m, 2H, H-4, H-6_{eq}), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (t, J = 10.4 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.12-3.01 (m, 1H, H-2), 2.79 (s, 3H, OCH₃), 1.58-1.52 (m, 2H, H-5, H-3); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 136.5 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 132.4 (2 CH, Ar), 131.1 (CH, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.4 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.4 (C, Ar), 128.4 (C, Ar), 128.2 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 125.8 (2 CH, Ar), 125.4 (C, Ar), 125.2 (C, Ar), 125.0 (CH, Ar), 124.6 (C,

Ar), 124.5 (C, Ar), 123.8 (CH, Ar), 123.6 (CH, Ar), 122.0 (CH, Ar), 104.1 (O-CH-O), 87.9 (CH-1), 81.0 (CH-3), 79.6 (CH-2), 78.1 (CH-4), 69.8 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 62.4 (OCH₃), 58.0 (OCH₃), 44.5 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₉H₃₅NO₆S [M+H]⁺: 646.22579, encontrada: 646.22344.

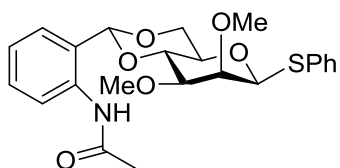
De forma análoga, a partir del derivado **E6-¹³C** (970 mg, 3.48 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **E7-¹³C** (1.33 g, 94 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₈¹³CH₃₆NO₆S [M+H]⁺: 647.22914, encontrada: 647.22610.

Compuesto E8.



El derivado **E8** se preparó a partir de la amina **E6** (88 mg, 0.22 mmol) y ácido fenilacético (36 mg, 0.26 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (90 min, microondas, 90 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1) para obtener la amida **E8** (109 mg, 95 %). **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.47 (s, 1H, NH), 8.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.53-7.41 (m, 2H, Ar), 7.32-7.23 (m, 6H, Ar), 7.23-7.15 (m, 3H, Ar), 7.04-6.98 (m, 1H, Ar), 6.96 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 5.22 (s, 1H, O-CH-O), 4.65 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-1), 3.87 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-4), 3.89 (dd, *J* = 1.5, 3.0 Hz, 1H, H-2), 3.87 (dd, *J* = 10.2, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}) 3.65 (s, 2H, CH₂-C=O), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.16 (dd, *J* = 9.9, 3.0 Hz, 1H, H-3), 2.63 (td, *J* = 10.2, 4.9 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.0 (C=O), 136.1 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 134.5 (C, Ar), 131.9 (2 CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.7 (2 CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 123.8 (CH, Ar), 122.1 (CH, Ar), 102.0 (O-CH-O), 88.8 (CH-1), 81.9 (CH-3), 79.8 (CH-4), 78.1 (CH-2), 70.8 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 62.4 (OCH₃), 58.6 (OCH₃), 45.5 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₉H₃₂NO₆S [M+H]⁺: 522.19448, encontrada: 522.19633.

Compuesto E9.

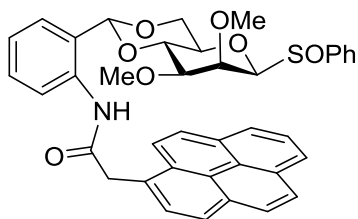


El derivado **E9** se preparó a partir de la amina **E6** (379 mg, 0.94 mmol) y ácido acético (70 μ L, 1.13 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (120 min, microondas, 60 $^{\circ}$ C).

El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 6:4) para obtener la amida **E9** (396 mg, 95 %). **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 8.69 (s, 1H, Ar), 8.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.53-7.47 (m, 2H, Ar), 7.43 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.38-7.28 (m, 4H, Ar), 7.12-7.04 (m, 1H, Ar), 5.58 (s, 1H, O-CH-O), 4.86 (d, J = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.39 (dd, J = 10.4, 4.9 Hz, 1H, H-6_a), 4.15 (t, J = 9.6 Hz, 1H, H-4), 4.05 (dd, J = 3.2, 1.3 Hz, 1H, H-2), 3.93 (t, J = 10.4 Hz, 1H, H-6_b), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.48-3.44 (dd, J = 3.2, 9.6 Hz, 1H, H-3), 3.44-3.38 (m, 1H, H-5); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 168.3 (C=O), 136.3 (C, Ar), 134.5 (C, Ar), 131.7 (2 CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 125.4 (C, Ar), 123.8 (CH, Ar), 122.2 (CH, Ar), 101.2 (O-CH-O), 89.0 (CH-1), 82.1 (CH-3), 79.5 (CH-2), 78.1 (CH-4), 71.3 (CH-5), 68.7 (CH₂-6), 62.3 (OCH₃), 58.3 (OCH₃), 25.0 (CH₂-C=O), **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₂₈NO₆S [M+H]⁺: 446.16318, encontrada: 446.16505.

De forma análoga, a partir del derivado **E6- ^{13}C** (235 mg, 0.58 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **E9- ^{13}C** (260 mg, 100 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂¹³CH₂₇NNaO₆S [M+Na]⁺: 469.14848, encontrada: 469.14810.

Compuestos 10 y 10- ^{13}C .



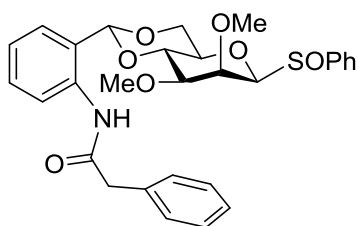
El tioglicósido **E7** (405 mg, 0.63 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (130 mg, 0.75 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas para el *procedimiento general VIII* (-78 $^{\circ}$ C \rightarrow -10 $^{\circ}$ C, 5 h) para rendir una mezcla diastereomérica de sulfóxidos 2.5:1, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice

(Hex/AcOEt 7:3 → 5:5). Para el **sulfóxido mayoritario** (291 mg, 70 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.50 (dd, *J* = 8.2, 1.3 Hz, 1H, Ar), 8.38 (s.a., 1H, NH), 8.26 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.22-8.10 (m, 3H, Ar), 8.10-7.91 (m, 2H, Ar), 7.91-7.79 (m, 2H, Ar), 7.79-7.68 (m, 5H, Ar), 7.44 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.34 (ddd, *J* = 8.6, 7.4, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.08 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, Ar), 6.98 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.99 (s, 1H, O-CH-O), 4.50 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.35 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O) 3.62 (dd, *J* = 2.9, 1.5 Hz, 1H, H-2), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H-4), 3.21 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-1), 3.18 (dd, *J* = 10.0, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.03 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.88 (s, 3H, OCH₃), 1.70 (dd, *J* = 10.0, 2.9 Hz, 1H, H-3), 1.37 (td, *J* = 10.0, 5.2 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 142.3 (C, Ar), 136.3 (C, Ar), 131.6 (CH, Ar), 131.1 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 130.8 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.2 (CH, Ar), 129.2 (C, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 129.1 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.3 (C, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.6 (C, Ar), 127.1 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.1 (2 CH, Ar), 124.9 (C, Ar), 124.7 (CH, Ar), 124.4 (CH, Ar), 123.8 (CH, Ar), 123.5 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 122.0 (CH, Ar), 104.0 (O-CH-O), 94.6 (CH-1), 80.7 (CH-3), 77.9 (CH-2), 73.4 (CH-4), 70.6 (CH-5), 67.7 (CH₂-6), 62.0 (OCH₃), 58.0 (OCH₃), 44.4 (CH₂-C=O); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₉H₃₅NO₇S [M+H]⁺: 662.2207, encontrada: 662.22204. Para el **sulfóxido minoritario** (118 mg, 28 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ar), 8.41 (s.a., 1H, NH), 8.35-8.13 (m, 6H, Ar), 8.10-8.00 (m, 2H, Ar), 7.77-7.69 (m, 3H, Ar), 7.67-7.62 (m, 3H, Ar), 7.35 (ddd, *J* = 8.6, 7.4, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.11 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, Ar), 6.99 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 5.03 (s, 1H, O-CH-O), 4.54 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.41 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.61-3.47 (m, 2H, H-6_{eq}, H-4), 3.38 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-1), 3.23 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.17 (s, 3H, OCH₃), 2.79 (dd, *J* = 2.6, 1.4 Hz, 1H, H-2), 2.71 (s, 3H, OCH₃), 1.86-1.78 (m, 1H, H-5), 1.77 (dd, *J* = 9.9, 2.6 Hz, 1H, H-3); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.4 (C=O), 140.4 (C, Ar), 136.3 (C, Ar), 132.4 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.2 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.4 (2 CH, Ar), 129.2 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar),

128.4 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.3 (C, Ar), 127.6 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 126.3 (2 CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 125.2 (C, Ar), 125.2 (CH, Ar), 124.7 (C, Ar), 124.6 (C, Ar), 123.9 (CH, Ar), 123.5 (CH, Ar), 122.2 (CH, Ar), 103.6 (O-CH-O), 98.2 (CH-1), 81.6 (CH-3), 78.1 (CH-4), 74.8 (CH-2), 71.3 (CH-5), 68.1 (CH₂-6), 60.8 (OCH₃), 58.4 (OCH₃), 44.3 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₉H₃₆NO₇S[M+H]⁺: 662.2207, encontrada: 662.22204.

De forma análoga, a partir del derivado **E7-¹³C** (260 mg, 0.40 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **10-¹³C** (sulfóxido mayoritario: 189 mg, 71 %; sulfóxido minoritario 62 mg, 24 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₈¹³CH₃₆NO₇S [M+H]⁺: 663.22405, encontrada: 663.22375.

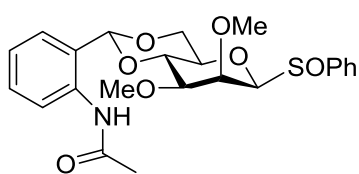
Compuesto 12.



El tioglicósido **E8** (72 mg, 0.14 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (28 mg, 0.16 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas para el *procedimiento general VIII* (-78 °C → -10 °C, 5 h) para rendir una mezcla diastereomérica de sulfóxidos 3.4:1, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1). Para el **sulfóxido mayoritario** (51 mg, 68 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.50 (s, 1H, NH), 8.41-8.17 (m, 1H, Ar), 7.81-7.71 (m, 2H, Ar), 7.68-7.57 (m, 3H, Ar), 7.37-7.27 (m, 3H, Ar), 7.22 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.10 (dd, *J* = 8.5, 7.0 Hz, 2H, Ar), 7.02 (td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar), 6.73 (tt, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 1H, Ar), 5.29 (s, 1H, O-CH-O), 4.36 (dd, *J* = 2.8, 1.3 Hz, 1H, H-2), 3.98 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-4), 3.92 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, H-1), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 2H, CH₂C=O), 3.71 (dd, *J* = 10.5, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.53 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (dd, *J* = 9.8, 2.8 Hz, 1H, H-3), 2.27 (td, *J* = 9.8, 4.9 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 168.9 (C=O), 142.2 (C, Ar), 136.3 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 132 (CH, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 125.0 (2 CH, Ar), 124.8 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar),

122.2 (CH, Ar), 103.1 (O-CH-O), 96.0 (CH-1), 81.5 (CH-3), 73.4 (CH-4), 78.1 (CH-2), 71.7 (CH-5), 68.0 (CH₂-6), 62.2 (OCH₃), 58.5 (OCH₃), 45.5 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₉H₃₂NO₇S [M+H]⁺: 538.1894, encontrada: 538.18935. Para el **sulfóxido minoritario** (15 mg, 23 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.35 (s, 1H, NH), 8.20 (dd, *J* = 8.5, 1.3 Hz, 1H, Ar), 7.88-7.73 (m, 2H, Ar), 7.73-7.54 (m, 3H, Ar), 7.47-7.29 (m, 7H, Ar), 7.13-7.00 (m, 1H, Ar), 5.33 (s, 1H, O-CH-O), 4.19 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-1), 4.12 (dd, *J* = 10.6, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.03 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-4), 3.77 (t, *J* = 15.6 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 3.73 (t, *J* = 15.6 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.58 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (dd, *J* = 2.8, 1.4 Hz, 1H, H-2), 3.15 (dd, *J* = 9.9, 2.8 Hz, 1H, H-3), 3.06 (td, *J* = 9.9, 4.9 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.0 (C=O), 140.3 (C, Ar), 135.8 (C, Ar), 134.8 (C, Ar), 132.6 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.6 (4 CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.1 (2 CH, Ar), 125.5 (C, Ar), 123.9 (CH, Ar), 122.5 (CH, Ar), 101.1 (O-CH-O), 99.7 (CH-1), 82.2 (CH-3), 78.1 (CH-4), 75.4 (CH-2), 72.2 (CH-5), 68.2 (CH₂-6), 61.0 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 45.4 (OAc); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₉H₃₂NO₇S [M+H]⁺: 538.1894, encontrada: 538.18879.

Compuesto 13.



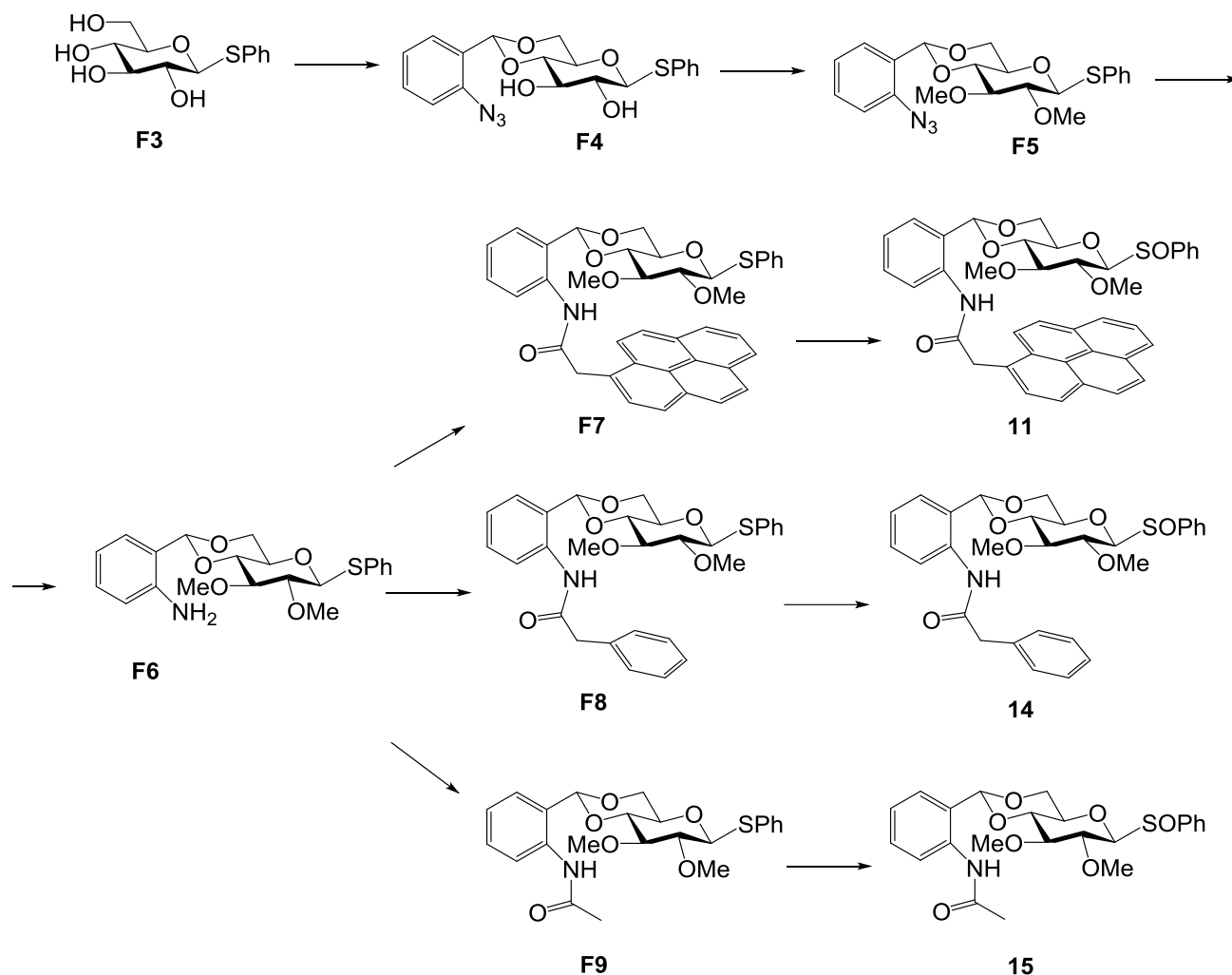
El tioglicósido **E9** (336 mg, 0.75 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (204 mg, 0.91 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-

78 °C → -10 °C, 5 h) para rendir una mezcla diastereomérica de sulfóxidos 3.3:1, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 5:5 → AcOEt). Para el **sulfóxido mayoritario** (230 mg, 66 %): **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.59 (s, 1H, NH), 8.13 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.71 (dq, *J* = 6.7, 2.7, 2.1 Hz, 2H, Ar), 7.56-7.48 (m, 3H, Ar), 7.39 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.32 (ddd, *J* = 8.7, 7.3, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.06 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 5.56 (s, 1H, O-CH-O), 4.43 (dd, *J* = 1.3, 2.6 Hz, 1H, H-2), 4.28-4.11 (m, 2H, H-4, H-6_a), 4.06 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, H-1),

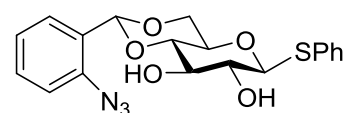
3.87-3.82 (m, 1H, H-6_b), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.44 (dd, $J = 9.9, 2.6$ Hz, 1H, H-3), 3.24 (td, $J = 9.7, 4.9$ Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 168.3 (C=O), 142.0 (2 C, Ar), 136.1 (C, Ar), 131.7 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 125.0 (2 CH, Ar), 123.8 (CH, Ar), 122.3 (CH, Ar), 101.2 (O-CH-O), 96.3 (CH-1), 81.6 (CH-3), 78.0 (CH-4), 73.1 (CH-2), 72.3 (CH-5), 68.1 (CH₂-6), 62.2 (OCH₃), 58.1 (OCH₃), 24.8 (NHAc). **HRMS (ESI)** m/z calculada para C₂₃H₂₈NO₇S [M+H]⁺: 462.1581, encontrada: 462.15808. Para el **sulfóxido minoritario** (70 mg, 20 %); **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.58 (s, 1H, NH), 8.14 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar), 7.86-7.74 (m, 2H, Ar), 7.68-7.59 (m, 3H, Ar), 7.45 (dd, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1H, Ar), 7.40-7.32 (m, 1H, Ar), 7.10 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, Ar), 5.62 (s, 1H, O-CH-O), 4.54 (dd, $J = 10.6, 4.9$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.30 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H-1), 4.20 (t, $J = 9.7$ Hz, 1H, H-4), 3.97 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.55 (td, $J = 9.7, 4.8$ Hz, 1H, H-5), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 3.42-3.39 (m, 1H, H-2), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.36-3.31 (m, 1H, H-3), 2.16 (s, 3H, OAc); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 168.1 (C=O), 140.3 (2 C, Ar), 136.1 (C, Ar), 132.7 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.6 (2 CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 126.3 (2 CH, Ar), 123.9 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 101.3 (O-CH-O), 99.7 (CH-1), 82.4 (CH-3), 78.1 (CH-4), 74.9 (CH-2), 72.7 (CH-5), 68.5 (CH₂-6), 61.0 (OCH₃), 58.7 (OCH₃), 24.7 (NHAc). **HRMS (ESI)** m/z calculada C₂₃H₂₈NO₇S [M+H]⁺: 462.1581, encontrada: 462.1581.

De forma análoga, a partir del derivado **E9-¹³C** (240 mg, 0.54 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **13-¹³C**. **Sulfóxido mayoritario** (175 mg, 70 %): **HRMS (ESI)** m/z calculada para C₂₂¹³CH₂₈NO₇S [M+H]⁺: 463.16145, encontrada: 463.16116. **Sulfóxido minoritario** (62 mg, 25 %), **HRMS (ESI)** m/z calculada para C₂₂¹³CH₂₈NO₇S [M+H]⁺: 463.16145, encontrada: 463.16027.

5.4.2.- DERIVADOS DE GLUCOSA (11, 14, 15).



Esquema 5.11.- Síntesis de los derivados de glucosa 11, 14 y 15. Los derivados **11-¹³C₆** y **15-¹³C₆** fueron preparados de forma análoga empleando D-glucosa-¹³C₆ como material de partida.

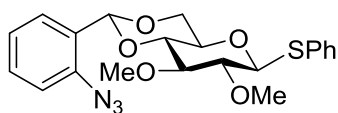
Compuestos F4 y F4-¹³C₆.

Siguiendo el *procedimiento general VI* (3 h, t.a.), se acoplaron el derivado **F3** (2.49 g, 9.13 mmol) y 1-azido-2-(dimetoximetil)benceno¹¹¹ (1.98 g, 10.96 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 5:5) para rendir el compuesto **F4** (2.66 g, 73 %); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.62 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.58-7.50 (m, 2H, Ar), 7.39 (td, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.35 (h, *J* = 2.7

Hz, 3H, Ar), 7.16 (ddd, $J = 9.4, 7.7, 1.5$ Hz, 2H, Ar), 5.76 (s, 1H, O-CH-O), 4.63 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, H-1), 4.36 (dd, $J = 10.1, 3.8$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.89-3.78 (m, 1H, H-3), 3.79 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.57-3.49 (m, 2H, H-5, H-4), 3.46 (ddd, $J = 9.7, 8.6, 2.1$ Hz, 1H, H-2), 2.74 (s.a., 1H, OH), 2.65 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, OH); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 137.7 (C, Ar), 133.3 (2 CH, Ar), 131.2 (C, Ar), 130.8 (CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.1 (C, Ar), 127.8 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 118.3 (CH, Ar), 97.5 (O-CH-O), 87.1 (CH-1), 80.5 (CH-4), 74.7 (CH-3), 72.7 (CH-2), 70.7 (CH-5), 68.9 (CH₂-6). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₁₉NaO₅S [M+Na]⁺: 424.09376, encontrada: 424.09448.

El compuesto marcado isotópicamente **F4-¹³C₆** se sintetizó de forma análoga a partir del derivado **F3-¹³C₆** (preparado a partir de D-Glucosa-¹³C₆) (966 mg, 3.48 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 5:5) para rendir el compuesto **F4-¹³C₆** (1.33 g, 94 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₃¹³C₆H₁₉N₃NaO₅S [M+Na]⁺: 430.11389, encontrada: 430.11561.

Compuesto F5 y F5-¹³C₆.

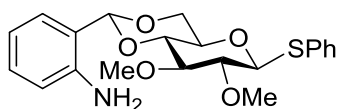


Este compuesto se preparó por reacción del diol **F4** (2.66 g, 6.6 mmol), NaH (60 %) (1.06 g, 26.5 mmol) y MeI (1.25 mL, 19.9 mmol) en DMF anhidra, siguiendo las directrices del *procedimiento general V* (90 min, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 8:2) para dar el derivado **F5** (2.84 g, 99 %). **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 7.62 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H, Ar), 7.57-7.48 (m, 2H, Ar), 7.44-7.36 (m, 1H, Ar), 7.35-7.28 (m, 3H, Ar), 7.21-7.10 (m, 2H, Ar), 5.71 (s, 1H, O-CH-O), 4.63 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, $J = 10.5, 4.8$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.77 (t, $J = 10.5$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-4), 3.48-3.38 (m, 2H, H-3, H-5), 3.12 (dd, $J = 9.8, 8.1$ Hz, 1H, H-2); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ : 137.7 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 130.5 (CH, Ar), 129.1

(2 CH, Ar), 128.5 (C, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 118.3 (CH, Ar), 97.2 (O-CH-O), 88.0 (CH-1), 84.8 (CH-3), 82.2 (CH-2), 81.5 (CH-4), 70.3 (CH-5), 69.0 (CH₂-6), 61.4 (OCH₃), 60.9 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₂₃N₃NaO₅S [M+Na]⁺: 452.12506, encontrada: 452.12603.

De forma análoga, a partir del derivado **F4-¹³C₆** (1.33 g, 3.27 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **F5-¹³C₆** (790 mg, 56 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₅¹³C₆H₂₃N₃NaO₅S [M+Na]⁺: 458.14519, encontrada: 458.14561.

Compuesto F6 y F6-¹³C₆.

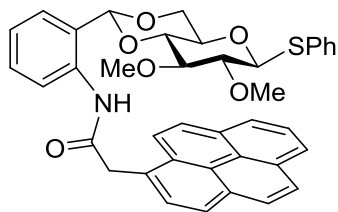


El derivado **F6** se preparó a partir de la azida **F5** (2.84 g, 6.62 mmol) y NaOH (13 mL) siguiendo el *procedimiento general III* (3 h, t.a.). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 → 5:5) para dar **F6** (2.01 g, 75 %). **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 7.56 (dd, *J* = 7.5, 2.0 Hz, 2H, Ar), 7.43-7.29 (m, 4H, Ar), 7.15 (td, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 6.77 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ar), 5.52 (s, 1H, O-CH-O), 4.66 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-1), 4.35 (dd, *J* = 10.2, 4.8 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.13 (s.a., 2H, NH), 3.75 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.56 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 3.49-3.39 (m, 2H, H-3, H-5), 3.15 (dd, *J* = 9.7, 8.2 Hz, 1H, H-2); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 144.7 (C, Ar), 132.9 (C, Ar), 132.2 (2 CH, Ar), 129.8 (CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 127.7 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 121.2 (C, Ar), 117.8 (CH, Ar), 116.4 (CH, Ar), 100.8 (O-CH-O), 87.8 (CH-1), 84.6 (CH-3), 82.3 (CH-2), 80.9 (CH-4), 70.1 (CH-5), 68.5 (CH₂-6), 61.1 (OCH₃), 60.9 (OCH₃). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₂₆NO₅S [M+H]⁺: 404.15262, encontrada: 404.15312.

De forma análoga, a partir del derivado **F5-¹³C₆** (790 mg, 1.81 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **F6-¹³C₆** (670 mg, 90 %). **HRMS**

(ESI) m/z calculada para $C_{15}^{13}C_6H_{25}NNaO_5S$ $[M+Na]^+$: 432.15469, encontrada: 432.15467.

Compuesto F7 y F7- $^{13}C_6$.

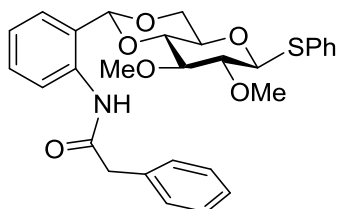


El derivado **F7** se preparó a partir de la amina **F6** (1.03 g, 2.54 mmol) y ácido 1-pirenoacético (793 mg, 3.05 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (90 min, microondas, 90 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1) para rendir el derivado **F7** (1.62 g, 2.70 mmol, 99 %). **1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.36 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.30-8.21 (m, 2H, Ar), 8.19 (dd, J = 3.2, 1.9 Hz, 3H, Ar), 8.16 (d, J = 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.09-7.84 (m, 4H, Ar), 7.50-7.41 (m, 2H, Ar), 7.41-7.34 (m, 4H, Ar), 7.15 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.02 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.81 (s, 1H, O-CH-O), 4.49 (d, J = 2.1 Hz, 2H, $CH_2-C=O$), 3.67 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-1), 3.37 (s, 3H, OCH_3), 3.14 (s, 3H, OCH_3), 3.12 (dd, J = 10.3, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.52 (t, J = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.62-2.42 (m, 2H, H-4, H-2), 2.32 (dd, J = 9.4, 8.2 Hz, 1H, H-3), 1.82 (td, J = 9.8, 5.2 Hz, 1H, H-5); **^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 169.6 (C=O), 135.9 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 132.9 (2 CH, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 130.8 (C, Ar), 130.2 (C, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.9 (C, Ar), 127.7 (CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 126.2 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 125.5 (C, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.1 (CH, Ar), 124.6 (C, Ar), 124.1 (CH, Ar), 123.2 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 101.7 (O-CH-O), 87.1 (CH-1), 83.8 (CH-3), 81.7 (CH-2), 80.6 (CH-4), 68.6 (CH-5), 68.2 (CH_2 -6), 60.9 (OCH_3), 60.6 (OCH_3), 44.0 ($CH_2-C=O$). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{39}H_{35}NO_6S$ $[M+H]^+$: 646.22579, encontrada: 646.22661.

De forma análoga, a partir del derivado **F6- $^{13}C_6$** (230 mg, 0.56 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **F7- $^{13}C_6$** (333 mg, 91 %). **HRMS**

(ESI) m/z calculada para $C_{33}^{13}C_6H_{36}NO_6S$ $[M+H]^+$: 652.24591, encontrada: 652.24601.

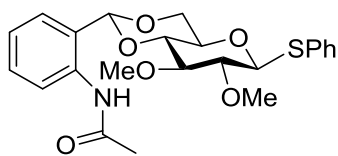
Compuestos **F8** y **F8- $^{13}C_6$** .



El derivado **F8** se preparó a partir de la amina **F6** (260 mg, 0.64 mmol) y ácido fenilacético (105 mg, 0.77 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (60 min, microondas, 80 °C). El residuo se purificó por

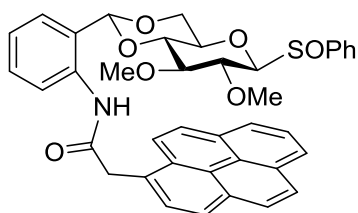
cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1) para obtener la amida **F8** (228 mg, 68 %). **1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.38 (s, 1H, NH), 8.34-8.20 (m, 1H, Ar), 7.70-7.49 (m, 2H, Ar), 7.47-7.29 (m, 8H, Ar), 7.29-6.96 (m, 3H, Ar), 5.24 (s, 1H, O-CH-O), 4.54 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-1), 3.97 (dd, J = 10.5, 5.0 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.78 (s, 2H, CH_2 -C=O), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 3.56 (s, 3H, OCH_3), 3.40 (t, J = 10.5 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.31 (t, J = 9.3 Hz, 1H, H-4), 3.21 (dd, J = 9.3, 8.1 Hz, 1H, H-3), 3.06 (dd, J = 9.7, 8.1 Hz, 1H, H-2), 2.77 (td, J = 9.3, 5.0 Hz, 1H, H-5); **^{13}C RMN (126 MHz, $CDCl_3$)** δ 169.2 (C=O), 136.1 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 132.8 (2 CH, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.9 (2 CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 125.4 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 122.5 (CH, Ar), 101.7 (O-CH-O), 88.2 (CH-1), 84.6 (CH-3), 82.6 (CH-2), 81.0 (CH-4), 69.6 (CH-5), 68.8 (CH_2 -6), 61.4 (OCH_3), 61.2 (OCH_3), 45.6 (CH_2 -C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{29}H_{31}NNaO_6S$ $[M+Na]^+$: 544.17643, encontrada: 544.17829.

De forma análoga, a partir del derivado **F6- $^{13}C_6$** (151 mg, 0.37 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **F8- $^{13}C_6$** (193 mg, 99 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{23}^{13}C_6H_{32}NO_6S$ $[M+H]^+$: 528.21461, encontrada: 528.21493.

Compuestos F9 y F9-¹³C₆.

Dicho compuesto se preparó a partir de la amina **F6** (161 mg, 0.40 mmol) y ácido acético (27 μ L, 0.48 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (90 min, microondas, 75 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 \rightarrow 5:5) para obtener la amida **F9** (130 mg, 73 %). **¹H RMN (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.51 (s, 1H, NH), 8.14 (d, J = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.53 (dd, J = 7.5, 2.1 Hz, 2H, Ar), 7.44 (d, J = 7.7 Hz, 1H, Ar), 7.42-7.29 (m, 4H, Ar), 7.11 (t, J = 7.6 Hz, 1H, Ar), 5.53 (s, 1H, O-CH-O), 4.63 (d, J = 9.8 Hz, 1H, H-1), 4.42 (dd, J = 10.6, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.78 (t, J = 10.4 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (t, J = 9.4 Hz, 1H, H-4), 3.44 (dt, J = 9.6, 4.9 Hz, 1H, H-5), 3.40 (t, J = 9.4, 8.2 Hz, 1H, H-3), 3.16 (dd, J = 9.8, 8.2 Hz, 1H, H-2), 2.18 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ 168.0 (C=O), 136.0 (C, Ar), 132.8 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 125.4 (C, Ar), 123.8 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 100.7 (O-CH-O), 88.2 (CH-1), 84.6 (CH-3), 82.9 (CH-2), 80.7 (CH-4), 70.1 (CH-5), 68.8 (CH₂-6), 61.2 (OCH₃), 61.1 (OCH₃), 24.7 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₂₇NNaO₆S [M+Na]⁺ 468.14513, encontrada 468.14470.

De forma análoga, a partir del derivado **F6-¹³C₆** (106 mg, 0.26 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **F9-¹³C₆** (117 mg, 100 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₇¹³C₆H₂₇NNaO₆S [M+Na]⁺: 474.16526, encontrada 474.16664.

Compuesto 11 y 11-¹³C₆.

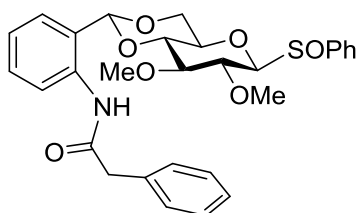
El tioglicósido **F7** (1.03 g, 1.60 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (397 mg, 1.77 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-78 °C \rightarrow -30 °C, 150 min) para rendir una mezcla

diastereomérica de sulfóxidos 1.1:1, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4 → 2:8). Para el **sulfóxido minoritario** (423 mg, 40 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.36 (s.a., 1H, NH), 8.33 (s, 1H, Ar), 8.25-8.13 (m, 4H, Ar), 8.13-8.02 (m, 4H, Ar), 8.02-7.92 (m, 1H, Ar), 7.71-7.45 (m, 5H, Ar), 7.41-7.29 (m, 1H, Ar), 7.12 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 7.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar), 4.67 (s, 1H, O-CH-O), 4.50 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.42 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.59 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-1), 3.18 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (dd, *J* = 10.3, 5.4 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.06-3.00 (m, 4H, OCH₃, H-4), 2.36 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.38-2.25 (m, 2H, H-2, H-3), 1.93 (td, *J* = 9.6, 5.0 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.8 (C=O), 140.0 (C, Ar), 135.6 (C, Ar), 134.4 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 131.1 (CH, Ar), 130.6 (C, Ar), 130.0 (C, Ar), 129.9 (C, Ar), 129.7 (C, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.1 (C, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 126.2 (CH, Ar), 125.7 (CH, Ar), 125.4 (CH, Ar), 125.1 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 124.9 (CH, Ar), 124.4 (C, Ar), 124.1 (CH, Ar), 122.9 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 101.1 (O-CH-O), 94.7 (CH-1), 83.9 (CH-3), 79.9 (CH-2), 76.0 (CH-4), 68.7 (CH-5), 67.5 (CH₂-6), 60.1 (OCH₃), 59.6 (OCH₃), 43.8 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) *m/z*** calculada para C₃₉H₃₉N₂O₇S [M+NH₄]⁺: 680.25046, encontrada: 680.24985. Para el **sulfóxido mayoritario** (475 mg, 45 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.36 (s.a., 1H, NH), 8.33 (s, 1H, Ar), 8.25-8.13 (m, 4H, Ar), 8.13-8.02 (m, 4H, Ar), 8.02-7.92 (m, 1H, Ar), 7.71-7.45 (m, 5H, Ar), 7.41-7.29 (m, 1H, Ar), 7.12 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 7.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar), 4.67 (s, 1H, O-CH-O), 4.50 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.42 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.59 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-1), 3.18 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (dd, *J* = 10.3, 5.4 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.06-3.00 (m, 4H, OCH₃, H-4), 2.36 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.38-2.25 (m, 2H, H-2, H-3), 1.93 (td, *J* = 9.6, 5.0 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.5 (C=O), 139.8 (C, Ar), 136.0 (C, Ar), 131.4 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.3 (C, Ar), 130.8 (C, Ar), 130.2 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.0 (C, Ar), 128.0 (C, Ar), 127.1 (CH, Ar), 126.7 (CH,

Ar), 126.2 (CH, Ar), 126.1 (CH, Ar), 125.9 (2 CH, Ar), 125.7 (C, Ar), 125.2 (C, Ar), 125.1 (CH, Ar), 125.0 (CH, Ar), 124.5 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 123.2 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 101.9 (O-CH-O), 92.7 (CH-1), 83.9 (CH-3), 80.3 (CH-2), 77.4 (CH-4), 69.3 (CH-5), 67.6 (CH₂-6), 61.1 (OCH₃), 60.5 (OCH₃), 44.1 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₉H₃₆NO₇S [M+H]⁺: 662.2207, encontrada: 662.2201.

De forma análoga, a partir del derivado **F7-¹³C₆** (232 mg, 0.36 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **11-¹³C₆**. Para el **primer sulfóxido** (86 mg, 36 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₃¹³C₆H₃₅NNaO₇S [M+Na]⁺: 690.22277, encontrada: 690.22278; Para el **segundo sulfóxido** (123 mg, 51 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₃¹³C₆H₃₆NO₇S [M+H]⁺: 668.24083, encontrada: 668.23982.

Compuesto 14 y 14-¹³C₆.



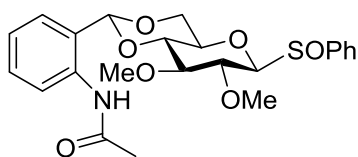
El tioglicósido **F8** (343 mg, 0.66 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (163 mg, 0.72 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-78 °C → -30 °C, 2 h) para rendir una mezcla

diastereomérica de sulfóxidos 1:1.7, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 → 3:7). Para el **primer sulfóxido** (115 mg, 32 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.19 (t, *J* = 8.59 Hz, 1H, Ar), 8.18 (s.a., 1H, NH), 7.70-7.61 (m, 2H, Ar), 7.56 (tdd, *J* = 6.4, 4.9, 2.4 Hz, 3H, Ar), 7.44-7.29 (m, 7H, Ar), 7.12-7.04 (m, 1H, Ar), 5.15 (s, 1H, O-CH-O), 4.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-1), 3.97 (dd, *J* = 10.6, 5.0 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.78 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H, CH₂-C=O), 3.53-3.47 (m, 1H, H-2), 3.50 (s, 3H, OCH₃), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 3.32 (dd, *J* = 9.0, 7.9 Hz, 1H, H-3), 3.24 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.21 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4) 3.00 (td, *J* = 9.8, 5.0 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.4 (C=O), 140.2 (C, Ar), 135.8 (C, Ar), 134.8 (C, Ar), 133.7 (CH, Ar), 131.4 (CH, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.4 (2 CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 125.6 (C, Ar),

125.0 (2 CH, Ar), 124.2 (CH, Ar), 122.8 (CH, Ar), 100.9 (O-CH-O), 95.8 (CH-1), 84.8 (CH-3), 80.6 (CH-4), 76.7 (CH-2), 69.8 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 61.0 (OCH₃), 60.3 (OCH₃), 45.5 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₉H₃₂NO₇S [M+H]⁺: 538.18903, encontrada: 538.1894. Para el **segundo sulfóxido** (197 mg, 56 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.36 (s, 1H, NH), 8.33-8.23 (m, 1H, Ar), 7.67 (ddd, *J* = 7.0, 3.8, 2.1 Hz, 2H, Ar), 7.62-7.56 (m, 3H, Ar), 7.38-7.28 (m, 3H, Ar), 7.25-7.18 (m, 3H, Ar), 7.09-7.01 (m, 1H, Ar), 6.96 (tt, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 1H, Ar), 5.20 (s, 1H, O-CH-O), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, H-1), 3.75 (s, 2H, CH₂-C=O), 3.67 (dd, *J* = 9.9, 8.3 Hz, 1H, H-2), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.54-3.50 (m, 1H, H-6_{eq}), 3.38 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-4), 3.34 (t, *J* = 10.6, 1H, H-6_{ax}), 3.25 (dd, *J* = 9.3, 8.3 Hz, 1H, H-3), 2.45 (td, *J* = 9.3, 4.9 Hz, 1H, H-5); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.0 (C=O), 139.8 (C, Ar), 136.2 (C, Ar), 134.8 (C, Ar), 131.4 (CH, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.9 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 125.3 (CH, Ar), 125.0 (2 CH, Ar), 124.0 (C, Ar), 122.4 (CH, Ar), 102.2 (O-CH-O), 93.4 (CH-1), 84.6 (CH-3), 80.7 (CH-4), 77.9 (CH-2), 70.2 (CH-5), 68.2 (CH₂-6), 61.6 (OCH₃), 61.2 (OCH₃), 45.5 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₉H₃₅N₂O₇S [M+NH₄]⁺: 555.21595, encontrada: 555.21332.

De forma análoga, a partir del derivado **F8-¹³C₆** (232 mg, 0.36 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **14-¹³C₆**. Para el **primer sulfóxido** (33 mg, 17 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃¹³C₆H₃₁NNaO₇S [M+Na]⁺: 566.19147, encontrada: 566.19228; Para el **segundo sulfóxido** (72 mg, 37 %), **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃¹³C₆H₃₅N₂O₇S [M+NH₄]⁺: 561.23608, encontrada 561.23585.

Compuesto 15 y 15-¹³C.



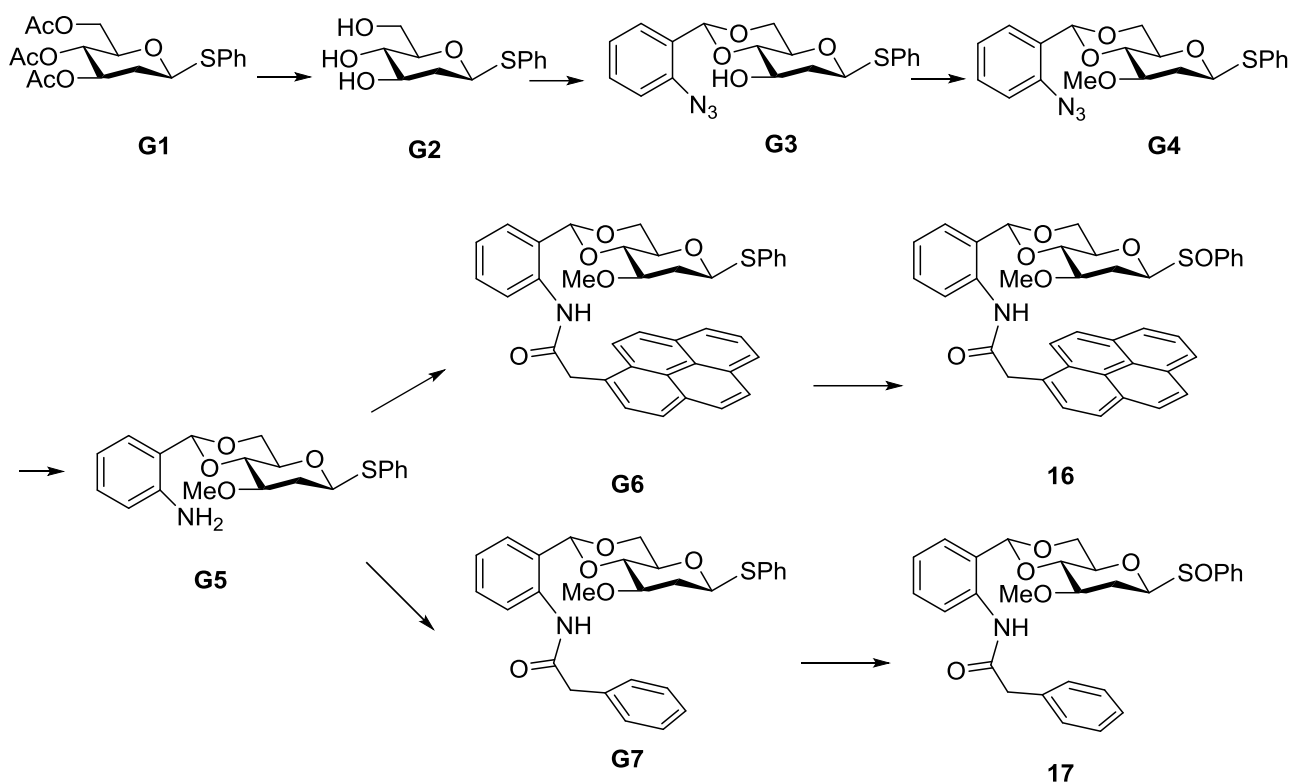
El tioglicósido **F9** (130 mg, 0.29 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (71 mg, 0.32 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-

78 °C → -30 °C, 4 h) para rendir una mezcla diastereomérica de sulfóxidos 1:1.4, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 5:5 → AcOEt). Para el **primer sulfóxido** (51 mg, 38 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.39 (s, 1H, NH), 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.62 (dq, *J* = 4.6, 2.6 Hz, 2H, Ar), 7.57-7.47 (m, 3H, Ar), 7.42 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, Ar), 7.34 (td, *J* = 6.8, 6.0, 2.3 Hz, 1H, Ar), 7.09 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 5.49 (s, 1H, O-CH-O), 4.42 (dd, *J* = 10.8, 3.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-1), 3.77-3.59 (m, 2H, H-2, H-6_{ax}), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.56-3.43 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 2.16 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 167.9 (C=O), 140.0 (C, Ar), 135.8 (C, Ar), 131.0 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 128.8 (2 CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 124.6 (2 CH, Ar), 123.8 (CH, Ar), 122.5 (CH, Ar), 100.6 (O-CH-O), 96.0 (CH-1), 84.8 (CH-3), 80.3 (CH-4), 76.6 (CH-2), 70.1 (CH-5), 68.3 (CH₂-6), 60.8 (OCH₃), 60.0 (OCH₃), 24.6 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₂₈NO₇S [M+H]⁺: 462.1581, encontrada: 462.15788. Para el **segundo sulfóxido** (70 mg, 52 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.43 (s, 1H, NH), 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.67-7.56 (m, 2H, Ar), 7.56-7.45 (m, 3H, Ar), 7.43-7.28 (m, 2H, Ar), 7.07 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, Ar), 5.46 (s, 1H, O-CH-O), 4.06 (dd, *J* = 10.9, 5.1 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.91 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-1), 3.80 (t, *J* = 9.8, 8.5 Hz, 1H, H-2), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.66-3.59 (m, 1H, H-4), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.48 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-3), 3.26 (td, *J* = 9.7, 5.0 Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 168.3 (C=O), 138.9 (C, Ar), 135.7 (C, Ar), 131.3 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.0 (C, Ar), 126.3 (CH, Ar), 125.1 (2 CH, Ar), 123.9 (CH, Ar), 122.5 (CH, Ar), 100.6 (O-CH-O), 93.3 (CH-1), 84.5 (CH-3), 80.1 (CH-4), 78.2 (CH-2), 70.5 (CH-5), 68.0 (CH₂-6), 61.3 (OCH₃), 61.0 (OCH₃), 24.5 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₃H₂₈NO₇S [M+H]⁺: 462.1581, encontrada: 462.15963.

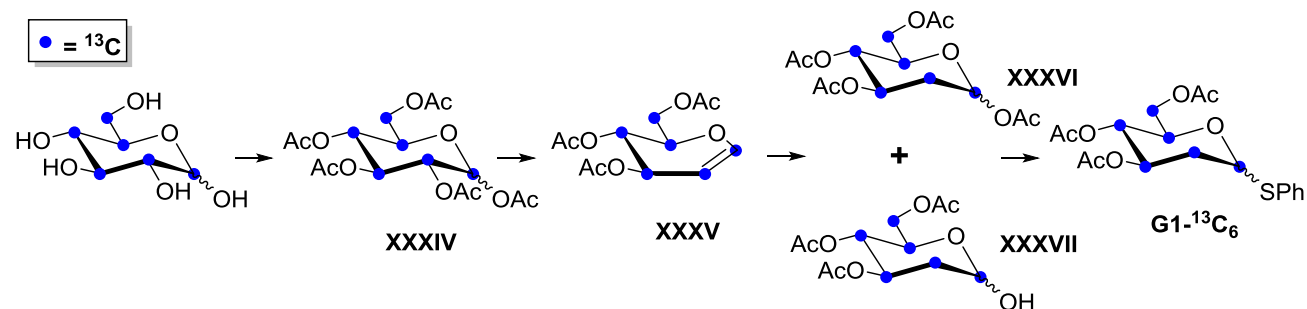
De forma análoga, a partir del derivado **E9-¹³C₆** (98 mg, 0.22 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **15-¹³C₆**. Para el **primer sulfóxido** (23 mg, 22 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₇¹³C₆H₂₇NNaO₇S [M+Na]⁺:

490.16017, encontrada: 490.16002. Para el **segundo sulfóxido** (45 mg, 44 %), **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{17}^{13}C_6H_{27}NNaO_7S$ $[M+Na]^+$: 490.16017, encontrada: 490.16002.

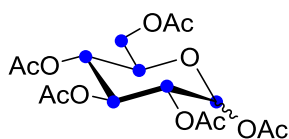
5.4.3.- DERIVADOS DE 2-DESOXIGLUCOSA.



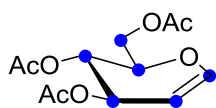
Esquema 5.12.- Síntesis de los derivados de 2-desoxiglucosa 16 y 17. Los derivados $16\text{-}^{13}C_6$ y $17\text{-}^{13}C_6$ fueron preparados empleando D-glucosa $^{13}C_6$ como material de partida.



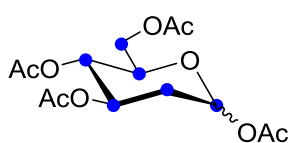
Esquema 5.13.- Síntesis de los derivados de 2-desoxiglucosa XXXIV-XXXVII, precursores del derivado $G1\text{-}^{13}C_6$.

Compuesto XXXIV

A una disolución de D-glucosa- $^{13}\text{C}_6$ (2.58 g, 6.52 mmol) en piridina seca (20 mL) a 0 °C, bajo atmósfera de argón, se le añadió anhídrido acético (10 mL) y DMAP (0.05 mmol), se dejó templar y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, la reacción se lavó con una disolución de HCl (1M), se extrajo con AcOEt, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se llevó a sequedad. El crudo de reacción (derivado **XXXIV**) se empleó en la siguiente reacción sin purificación previa.

Compuesto XXXV

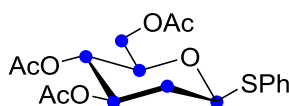
El derivado **XXXIV** (2.55 g, 6.52 mmol) se disolvió en DCM anhidro (15 mL), se enfrió a 0 °C, bajo atmósfera inerte, y se trató con anhídrido acético (0.1 mL) y una disolución al 33 % de HBr en AcOH (8.5 mL). Pasadas 6 horas, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y agua/hielo y se dejó agitar durante 15 min. La fase orgánica se separó y se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 , se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. A continuación, al crudo resultante, disuelto en ACN anhidro, se le añadió NH_4Cl (2.62 g, 48.9 mmol), Zn en polvo recién activado (3.20 g) y una cantidad catalítica de yodo. La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 20 min, se filtró sobre celita®, y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 7:3) para rendir del derivado **XXXV** (1.28 mg, 87 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_6^6\text{C}_6\text{H}_{16}\text{NaO}_7$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 301.09950, encontrada: 301.13118.

Compuesto XXXVI

A una disolución del derivado **XXXV** (1.28 g, 4.70 mmol) en DCM anhidro (40 mL) se le añadió $\text{PPh}_3\cdot\text{HBr}$ (323 mg, 0.95 mmol) y ácido acético (8.5 mL). La mezcla de reacción se dejó

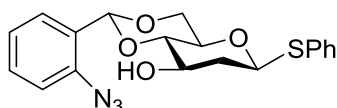
templar, y se agitó a temperatura ambiente durante 96 h. A continuación, se lavó con NaHCO_3 y salmuera, y la fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se concentró a vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para dar compuesto **XXXVI** (890 mg, 56 %), junto con el producto de hidrólisis **XXXVII** (292 mg, 21 %). Para **XXXVI**: **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_8^{13}\text{C}_6\text{H}_{20}\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 361.12063, encontrada: 361.37863. Para **XXXVII**: **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_6^{13}\text{C}_6\text{H}_{18}\text{NaO}_8$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 319.11007, encontrada: 319.40407.

Compuesto **G1- $^{13}\text{C}_6$** .



A una disolución del derivado **XXXVI** (1.32 g, 3.90 mmol) en DCM anhidro, se le añadió a 0 °C, bajo atmósfera de argón, PhSH (0.65 mL, 4.68 mmol), seguido de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.72 mL, 5.85 mmol). La mezcla de reacción se dejó templar y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 y salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se llevó a sequedad bajo presión reducida. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2) para rendir el derivado **G1- $^{13}\text{C}_6$** . **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{12}^{13}\text{C}_6\text{H}_{22}\text{NaO}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 411.11797, encontrada: 411.11906.

Compuestos **G3** y **G3- $^{13}\text{C}_6$** .

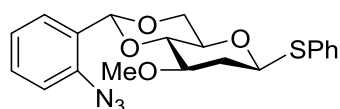


Siguiendo el *procedimiento general VI* (3h, t.a.), se acoplaron el derivado **G2¹¹⁴** (615 mg, 2.40 mmol) y 1-azido-2-(dimetoximetil)benzeno¹¹¹ (555 mg, 2.88 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 7:3) para rendir el compuesto **G3** (666 mg, 72 %): **^1H RMN (300 MHz, CDCl_3)** δ 7.53 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, Ar), 7.44-7.37 (m, 2H, Ar), 7.31 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1H, Ar), 7.27-7.20 (m, 3H, Ar), 7.13-7.03 (m, 2H, Ar), 5.69 (s, 1H, O-CH-O), 4.79, (dd, $J = 12.0, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 4.22 (dd, $J = 10.7, 4.8$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.81 (td, $J = 10.6, 6.4$,

2.1 Hz, 1H, H-3), 3.71 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.35-3.20 (m, 2H, H-4, H-5), 2.53 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, OH), 2.29 (ddd, $J = 13.2, 5.3, 2.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.75 (ddd, $J = 13.2, 12.0, 11.0$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 137.5 (C, Ar), 132.9 (C, Ar), 131.9 (2 CH, Ar), 130.5 (CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.1 (C, Ar), 127.8 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 124.9 (CH, Ar), 118.1 (CH, Ar), 97.3 (O-CH-O), 82.9 (CH-4), 82.7 (CH-1), 70.4 (CH-5), 69.3 (CH-3), 68.8 (CH₂-6), 38.6 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₁₉N₃NaO₄S [M+Na]⁺: 408.09885, encontrada: 408.09697.

El compuesto marcado isotópicamente **G3-¹³C₆** se sintetizó de forma análoga a partir del derivado **G2-¹³C₆** (preparado a partir de D-Glucosa-¹³C₆) (670 mg, 2.51 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 7:3) para rendir el compuesto **G3-¹³C** (840 mg, 86 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₃¹³C₆H₁₉N₃NaO₄S [M+Na]⁺: 414.11950, encontrada: 414.11320.

Compuestos **G4** y **G4-¹³C₆**.

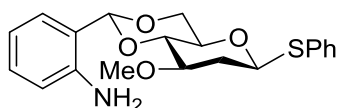


El derivado **G4** se preparó por reacción del alcohol **G3** (460 mg, 1.19 mmol), NaH (60 %) (1.06 g, 26.5 mmol) y MeI (0.11 mL, 1.78 mmol) en DMF anhidra, siguiendo el *procedimiento general V* (90 min, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 8:2) para dar el derivado **G4** (400 mg, 84 %). **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 7.64 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, Ar), 7.53-7.48 (m, 2H, Ar), 7.40-7.35 (m, 1H, Ar), 7.35-7.29 (m, 3H, Ar), 7.19-7.12 (m, 2H, Ar), 5.77 (s, 1H, O-CH-O), 4.90 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 4.31 (dd, $J = 10.5, 4.9$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.83 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.62-3.53 (m, 2H, H-4, H-3), 3.50-3.45 (m, 1H, H-5), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 2.50 (ddd, $J = 13.1, 4.8, 2.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.85-1.68 (m, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃)** δ : 137.7 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 132.1 (2 CH, Ar), 131.6 (C, Ar), 130.5 (CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.7 (CH, Ar), 124.9 (CH, Ar), 118.2 (CH, Ar), 97.4 (O-CH-O), 83.0 (CH-1), 82.6 (CH-4), 77.7 (CH-3), 70.9

(CH-5), 69.0 (CH₂-6), 58.0 (OCH₃) 37.0 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₂₁N₃NaO₄S [M+Na]⁺: 422.1145, encontrada: 422.11399.

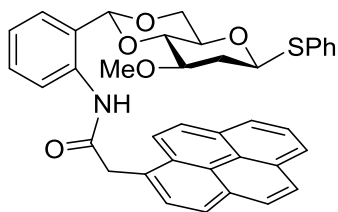
De forma análoga, a partir del derivado **G3-¹³C₆** (840 mg, 2.15 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **G4-¹³C₆** (560 mg, 64 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₄¹³C₆H₂₁N₃NaO₄S [M+Na]⁺: 428.13463, encontrada: 428.13511.

Compuestos **G5** y **G5-¹³C₆**.



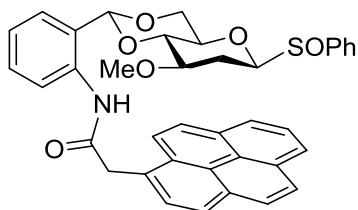
El derivado **G5** se preparó a partir de la azida **G4** (920 mg, 2.16 mmol) y NaOH (4 mL) siguiendo el *procedimiento general III* (3 h, t.a.). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3) para dar **G5** (529 mg, 66 %). **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 7.51-7.47 (m, 2H, Ar), 7.36-7.27 (m, 4H, Ar), 7.13 (ddd, *J* = 7.9, 7.4, 1.6 Hz, 1H, Ar), 6.77-6.70 (m, 1H, Ar), 6.68 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, Ar), 5.55 (s, 1H, O-CH-O), 4.89 (dd, *J* = 11.7, 2.2 Hz, 1H, H-1), 4.36 (dd, *J* = 10.1, 5.1 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.82 (t, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.63-3.53 (m, 2H, H-3, H-4), 3.52-3.47 (m, 1H, H-5), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 2.51 (ddd, *J* = 13.1, 4.8, 2.2 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.85-1.69 (m, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 145.7 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 132.1 (2 CH, Ar), 131.5 (C, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 118.3 (CH, Ar), 116.8 (CH, Ar), 101.6 (O-CH-O), 83.1 (CH-1), 82.4 (CH-4), 77.9 (CH-3), 71.0 (CH-5), 68.9 (CH₂-6), 58.2 (OCH₃), 37.0 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₀H₂₄NO₄S [M+H]⁺: 374.14206, encontrada: 374.14047.

De forma análoga, a partir del derivado **G4-¹³C₆** (560 mg, 1.38 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **G5-¹³C₆** (501 mg, 96 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₄¹³C₆H₂₄NO₄S [M+H]⁺: 380.16218, encontrada: 380.16314.

Compuestos **G6** y **G6-¹³C₆**.

El tioglicósido **G6** se preparó a partir de la amina **G5** (249 mg, 0.64 mmol) y ácido 1-pirenoacético (199 mg, 0.77 mmol) siguiendo el procedimiento general VII (2 h, microondas, 60 °C y 60 min, microondas, 80 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 95:5) para obtener la amida **G6** (200 mg, 51 %). **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.46 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, 1H, Ar), 8.38 (s, 1H, NH), 8.31 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.22-8.13 (m, 4H, Ar), 8.09-8.00 (m, 2H, Ar), 7.93 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.82 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.47-7.29 (m, 6H, Ar), 7.09 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.00 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.91 (s, 1H, O-CH-O), 4.50 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.45 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.48 (dd, *J* = 12.0, 2.3 Hz, 1H, H-1), 3.36 (dd, *J* = 10.5, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.90 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.84 (s, 3H, OCH₃), 2.67 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 1.78 (ddd, *J* = 10.9, 9.0, 5.2 Hz, 1H, H-3), 1.55-1.44 (m, 2H, H-2_{eq}, H-5) 1.01 (td, *J* = 12.2, 10.9 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.5 (C=O), 136.3 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 132.7 (2 CH, Ar), 131.3 (2 C, Ar), 131.3 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.8 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 129.2 (C, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.1 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 125.1 (CH, Ar), 124.6 (C, Ar), 123.9 (CH, Ar), 123.5 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 103.3 (O-CH-O), 82.1 (CH-4), 81.6 (CH-1), 76.5 (CH-3), 69.0 (CH-5), 68.5 (CH₂-6), 57.3 (OCH₃), 44.2 (CH₂-C=O), 36.2 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₈H₃₄NO₅S [M+H]⁺: 616.21534, encontrada: 616.21522.

De forma análoga, a partir del derivado **G5-¹³C₆** (217 mg, 0.57 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **G6-¹³C₆** (180 mg, 51 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₂¹³C₆H₃₄NO₅S [M+H]⁺: 622.23535, encontrada: 622.23586.

Compuestos **16** y **16-¹³C₆**.

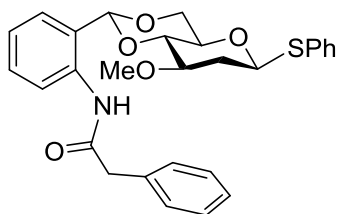
El tioglicósido **G6** (200 mg, 0.32 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (87 mg, 0.39 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-78 °C → -30 °C, 2 h) para rendir una mezcla

diastereomérica de sulfóxidos, separables parcialmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 → 4:6). (72 mg del primer sulfóxido y 102 mg de una mezcla de ambos sulfóxidos, 86 % rendimiento global). Para el **primer sulfóxido**: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8.36 (dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.28 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.22 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 8.20-8.12 (m, 4H, Ar), 8.08-8.02 (m, 2H, Ar), 7.98 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.90 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ar), 7.67-7.63 (m, 3H, Ar), 7.63-7.56 (m, 1H, Ar), 7.35 (td, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.12 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.01 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.80 (s, 1H, O-CH-O), 4.61-4.39 (m, 2H, CH₂-C=O), 3.32 (dd, *J* = 11.9, 2.8 Hz, 1H, H-1), 3.15 (dd, *J* = 10.5, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.85 (s, 3H, OCH₃), 2.60 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.60 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-4), 2.03 (ddd, *J* = 10.9, 9.1, 5.1 Hz, 1H, H-3), 1.65 (td, *J* = 9.8, 5.1 Hz, 1H, H-5), 1.56 (m, 1H, H-2_a), 1.32 (m, 1H, H-2_b); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 169.4 (C=O), 140.7 (C, Ar), 136.0 (C, Ar), 132.0 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.2 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.1 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.1 (CH, Ar), 124.9 (2 CH, Ar), 124.6 (C, Ar), 124.1 (CH, Ar), 123.5 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 102.4 (O-CH-O), 91.4 (CH-2), 81.7 (CH-4), 76.0 (CH-5), 69.6 (CH-3), 67.8 (CH₂-6), 57.4 (OCH₃), 44.2 (CH₂-C=O), 27.6 (CH₂-2); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₈H₃₃NNaO₆S[M+Na]⁺: 654.19208, encontrada: 654.1925.

De forma análoga, a partir del derivado **G6-¹³C₆** (180 mg, 0.29 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **16-¹³C₆**. **Primer sulfóxido** eluido

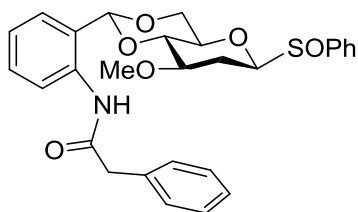
(53 mg, 29 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{32}^{13}C_6H_{34}NO_6S$ $[M+H]^+$: 638.23026, encontrada: 638.23125; y 68 mg (37 %) de la mezcla de sulfóxidos.

Compuestos **G7** y **G7- $^{13}C_6$** .



El tioglicósido **G7** se preparó a partir de la amina **G5** (254 mg, 0.68 mmol) y ácido fenilacético (106 mg, 0.78 mmol) siguiendo el *procedimiento general VII* (75 min, microondas, 80 °C). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (tolueno/AcOEt 9:1) para obtener la amida **G7** (210 mg, 63 %). **1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.47 (s.a., 1H, NH), 8.26 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H, Ar), 7.56-7.50 (m, 2H, Ar), 7.43-7.29 (m, 9H, Ar), 7.19 (ddt, J = 8.8, 7.1, 1.4 Hz, 1H, Ar), 7.11-7.03 (m, 1H, Ar), 5.30 (s, 1H, O-CH-O), 4.79 (dd, J = 12.1, 2.1 Hz, 1H, H-1), 3.98 (dd, J = 10.0, 5.4 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.76 (s, 2H, CH_2 -C=O), 3.49 (t, J = 10.0 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.39 (s, 3H, OCH_3), 3.40-3.31 (m, 2H, H-4, H-3), 2.85 (ddd, J = 10.0, 8.6, 5.4 Hz, 1H, H-5), 2.50 (ddd, J = 13.0, 4.7, 2.1 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.68 (td, J = 13.0, 12.0, 10.3 Hz, 1H, H-2_{ax}); **^{13}C RMN (126 MHz, $CDCl_3$)** δ 169.1 (C=O), 136.2 (C, Ar), 135.1 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 125.5 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 102.0 (O-CH-O), 83.1 (CH-1), 82.2 (CH-4), 77.7 (CH-3), 70.3 (CH-5), 68.9 (CH_2 -6), 57.9 (OCH_3), 45.5 (CH_2 -C=O), 36.8 (CH_2 -2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{28}H_{30}NO_5S$ $[M+H]^+$: 492.18392, encontrada: 492.18523.

De forma análoga, a partir del derivado **G5- $^{13}C_6$** (168 mg, 0.44 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **G7- $^{13}C_6$** (122 mg, 56 %). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{22}^{13}C_6H_{30}NO_5S$ $[M+H]^+$: 498.20405, encontrada: 528.21493.

Compuestos 17 y 17-¹³C₆.

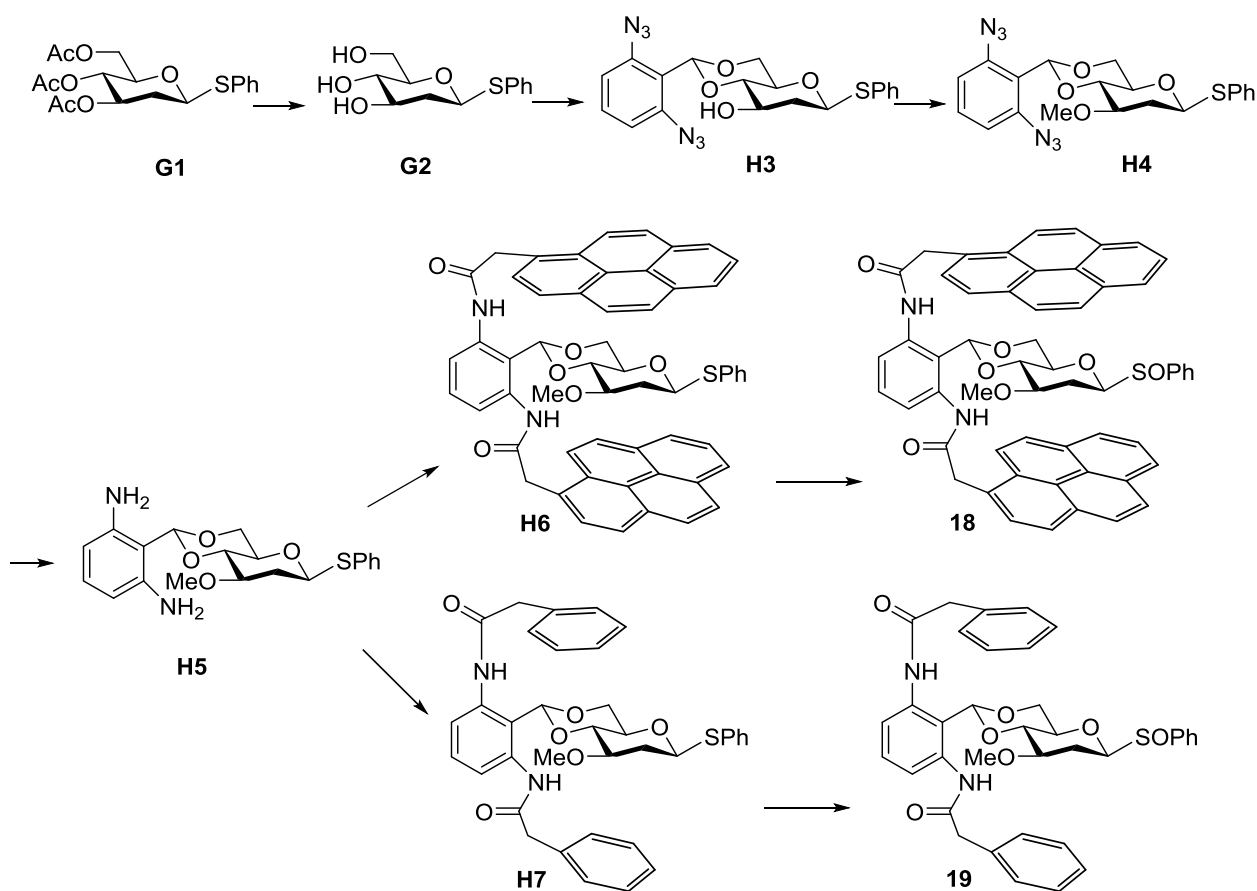
El tioglicósido **G7** (264 mg, 0.54 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (132 mg, 0.59 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-78 °C → -30 °C, 5 h) para rendir una mezcla

diastereomérica de sulfóxidos 1.6:1, separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 → 4:6). Para el **primer sulfóxido** eluido (142 mg, 52 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.41 (s, 1H, NH), 8.22 (dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, 1H, Ar), 7.72-7.66 (m, 2H, Ar), 7.59 (dt, *J* = 4.5, 2.8 Hz, 3H, Ar), 7.43-7.39 (m, 1H, Ar), 7.34-7.27 (m, 5H, Ar), 7.14-7.01 (m, 2H, Ar), 5.28 (s, 1H, O-CH-O), 4.14 (dd, *J* = 11.9, 2.5 Hz, 1H, H-1), 3.90 (dd, *J* = 10.5, 4.6 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.74 (s, 2H, CH₂-C=O), 3.45 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.41-3.38 (m, 1H, H-4), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 3.33-3.24 (m, 1H, H-3), 2.76 (td, *J* = 9.8, 4.9 Hz, 1H, H-5), 2.27 (td, *J* = 13.1, 5.0, 2.5 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.97-1.81 (m, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.1 (C=O), 140.5 (C, Ar), 136.0 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 131.7 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 129.1 (2 CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 124.7 (2 CH, Ar), 123.9 (CH, Ar), 122.45 (CH, Ar), 101.6 (O-CH-O), 92.5 (CH-1), 81.8 (CH-4), 77.0 (CH-3), 70.8 (CH-5), 68.3 (CH₂-6), 57.7 (OCH₃) 45.3 (CH₂-C=O), 27.9 (CH₂-2). **HRMS (ESI) *m/z*** calculada para C₂₈H₃₀NO₆S [M+H]⁺:508.17883, encontrada: 508.17818. Para el **segundo sulfóxido** (89 mg, 32 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.24 (s, 1H, NH), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar), 7.60 (dq, *J* = 6.9, 2.5 Hz, 2H, Ar), 7.52 (qd, *J* = 4.4, 1.5 Hz, 3H, Ar), 7.34-7.21 (m, 6H, Ar), 7.18-7.11 (m, 1H, Ar), 6.99 (td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar), 5.14 (s, 1H, O-CH-O), 4.30 (dd, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 1H, H-1), 3.91 (dd, *J* = 10.5, 4.9 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.67 (s, 2H, CH₂-C=O), 3.32 (t, *J* = 10.5, 1H, H-6_{ax}), 3.28 (s, 3H, OCH₃), 3.26-3.18 (m, 1H, H-3), 3.14 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 2.87 (td, *J* = 9.6, 4.9 Hz, 1H, H-5), 2.18 (ddd, *J* = 13.0, 4.8, 2.4 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.37-1.19 (m, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.2 (C=O), 139.0 (C, Ar), 135.9 (C, Ar), 135.1 (C, Ar), 132.1 (CH, Ar), 130.0 (CH,

Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.24 (2 CH, Ar), 129.21 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 125.8 (2 CH, Ar), 125.5 (C, Ar), 124.1 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 101.4 (O-CH-O), 90.4 (CH-1), 82.1 (CH-4), 77.0 (CH-3), 71.1 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 58.0 (OCH₃), 45.4 (CH₂-C=O), 29.8 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₈H₃₀NO₆S [M+H]⁺: encontrada: 508.18099.

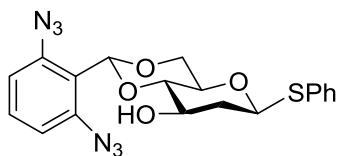
De forma análoga, a partir del derivado **G7-¹³C₆** (122 mg, 0.24 mmol), se obtuvo el compuesto marcado isotópicamente **17-¹³C₆**. Para el **primer sulfóxido** eluido (73 mg, 45 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂¹³C₆H₃₀NO₆S [M+H]⁺: 514.19896, encontrada: 514.19667; Para el **segundo sulfóxido** (37 mg, 30 %): **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₂¹³C₆H₂₉NNaO₆S [M+Na]⁺: 536.18091, encontrada: 536.17768.

5.4.4.- DERIVADOS DE 2-DESOXIGLUCOSA "SANDWICH".



Esquema 5.14.- Síntesis de los derivados de 2-desoxiglucosa "sándwich" 18 y 19.

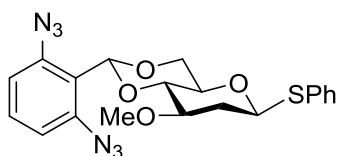
Compuesto H3.



Siguiendo el *procedimiento general VI* (20 h, t.a.), se acoplaron el derivado **G2**¹¹⁴ (615 mg, 2.40 mmol) y 1,3-diazido-2-(dimetoximetil)benceno (674 mg, 2.88 mmol).

El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 7:3) para rendir el compuesto **H3** (685 mg, 67 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 7.53-7.44 (m, 2H, Ar), 7.42-7.27 (m, 4H, Ar), 6.95 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar), 5.98 (s, 1H, O-CH-O), 4.95 (dd, *J* = 12.0, 2.2 Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, *J* = 10.2, 4.7 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.00 (dddd, *J* = 11.2, 8.4, 5.3, 2.8 Hz, 1H, H-3), 3.74 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.61 (ddd, *J* = 10.2, 9.3, 4.7 Hz, 1H, H-5), 3.40 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 2.42 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-OH), 2.42 (ddd, *J* = 13.3, 5.3, 2.1 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.85 (ddd, *J* = 13.3, 12.0, 10.9 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 140.3 (2 C, Ar), 133.1 (C, Ar), 131.8 (2 CH, Ar), 131.1 (CH, Ar), 129.0 (2 CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 119.1 (C, Ar), 115.6 (2 CH, Ar), 97.0 (O-CH-O), 83.2 (CH-4), 82.8 (CH-1), 70.1 (CH-5), 69.3 (CH-3), 69.1 (CH₂-6), 38.7 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₁₈N₆NaO₄S [M+Na]⁺: 449.10024, encontrada 449.09958.

Compuesto H4.

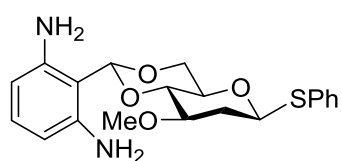


El derivado metilado **H4** se preparó por reacción del alcohol **H3** (400 mg, 0.94 mmol), NaH (60 %) (56 mg, 1.39 mmol) y MeI (87 μL, 1.39 mmol) en DMF anhidra,

siguiendo las directrices del *procedimiento general V* (2 h, t.a.). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 95:5 → 90:10) para dar el derivado **H4** (370 mg, 90 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 7.49 (dd, *J* = 7.3, 2.2 Hz, 2H, Ar), 7.39-7.28 (m, 4H, Ar), 6.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar), 5.98 (s, 1H, O-CH-O), 4.94 (dd, *J* = 12.1, 2.2 Hz, 1H, H-1), 4.31 (dd, *J* = 10.3, 4.5 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.75 (t, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.69-6.55 (m, 2H, H-3, H-5), 3.51 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H,

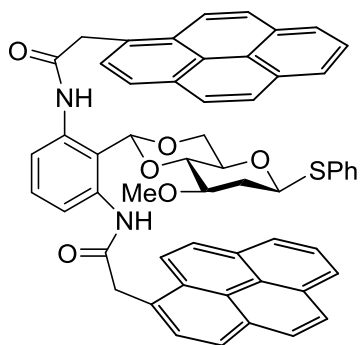
H-4), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 2.55 (ddd, $J = 13.1, 5.0, 2.3$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.74 (q, $J = 13.1, 12.0, 10.7$ Hz, 1H, H-2_{ax}); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 140.2 (2 C, Ar), 133.1 (C, Ar), 131.6 (2 CH, Ar), 130.8 (CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 119.4 (C, Ar), 115.7 (2 CH, Ar), 96.8 (O-CH-O), 82.8 (CH-1), 82.1 (CH-4), 77.5 (CH-3), 70.4 (CH-5), 69.0 (CH₂-6), 57.1 (OCH₃), 36.4 (CH₂-2). HRMS (ESI) m/z calculada para C₂₀H₂₀N₆NaO₄S [M+Na]⁺: 463.11589, encontrada 463.1167.

Compuesto H5.



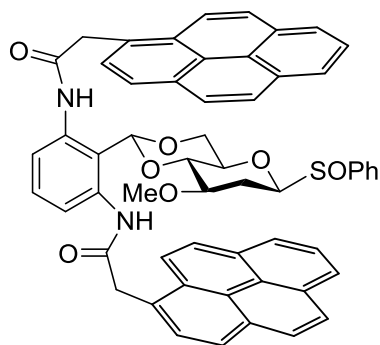
La dianilina **H5** se preparó a partir de la di-azida **H4** (370 mg, 0.84 mmol) y NaOH (1.7 mL) siguiendo el *procedimiento general III* (4 h, t.a.). El crudo de reacción se

purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 6:4 → 5:5) para dar **H5** (250 mg, 77 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7.53-7.44 (m, 2H, Ar), 7.37-7.28 (m, 3H, Ar), 6.88 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, Ar), 6.09 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, Ar), 5.78 (s, 1H, O-CH-O), 4.89 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 4.37 (dd, $J = 10.5, 4.2$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.13 (s.a., 4H, 2 NH₂), 3.80 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.61-3.46 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 2.51 (dt, $J = 13.6, 4.1, 2.1$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.73 (q, $J = 13.2, 12.3, 10.0$ Hz, 1H, H-2_{ax}); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 146.1 (2 C, Ar), 132.9 (C, Ar), 131.7 (2 CH, Ar), 130.1 (CH, Ar), 128.8 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 107.5 (2 CH, Ar), 106.5 (C, Ar), 101.0 (O-CH-O), 82.6 (CH-1), 82.1 (CH-4), 77.4 (CH-3), 70.5 (CH-5), 68.8 (CH₂-6), 57.7 (OCH₃), 36.6 (CH₂-2). HRMS (ESI) m/z calculada para C₂₀H₂₅N₂O₄S [M+H]⁺: 389.15295, encontrada 389.15409.

Compuesto H6.

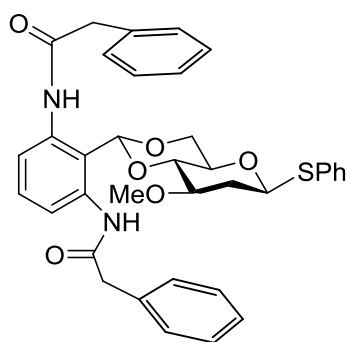
Una disolución del di-aminoderivado **H5** (250 mg, 0.64 mmol) en DCM anhidro (6.4 mL) se trató a 0 °C, bajo atmósfera de argón, con Et₃N (0.36 mL, 2.57 mmol). A continuación, se añadió una disolución recién preparada de cloruro de 1-pirenoacetilo (448 mg, 1.61 mmol) en DCM anhidro (3.3 mL). La mezcla resultante se agitó

durante 60 h hasta que no se detectó producto de partida por TLC, momento en el cual, se detuvo la reacción por adición de MeOH, y el crudo se llevó a sequedad. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/AcOEt 6:4) para rendir el derivado **H6** (396 mg, 71 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.12-7.98 (m, 5H, Ar, 2 NH), 7.98-7.85 (m, 6H, Ar), 7.85-7.69 (m, 7H, Ar), 7.62 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar), 7.51 (dt, *J* = 5.8, 2.5 Hz, 3H, Ar), 7.48-7.39 (m, 2H, Ar), 7.33-7.23 (m, 1H, Ar), 4.33 (s, 1H, O-CH-O), 4.31 (d, *J* = 16.8 Hz, 2H, 2 CH_{2a}-C=O), 4.22 (d, *J* = 16.8 Hz, 2H CH_{2b}-C=O), 2.86 (dd, *J* = 12.2, 2.3 Hz, 1H, H-1), 2.65 (dd, *J* = 10.4, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.22 (s, 3H, OCH₃), 1.91 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 1.08 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4), 0.94 (ddd, *J* = 12.7, 5.1, 2.3 Hz, 1H, H-2_a), 0.81 (td, *J* = 10.1, 5.2 Hz, 1H, H-3), 0.34 (td, *J* = 9.8, 5.1 Hz, 1H, H-5), -0.04 (td, *J* = 12.4, 10.4 Hz, 1H, H-2_b); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (2 C=O), 135.9 (2 C, Ar), 133.8 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 130.8 (4 C, Ar), 130.3 (2 C, Ar), 129.6 (C, Ar), 129.5 (CH, Ar), 128.7 (2 CH, Ar), 128.5 (2 CH, Ar), 128.4 (2 CH, Ar), 127.9 (C, Ar), 127.8 (CH, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 126.9 (2 CH, Ar), 126.2 (2 CH, Ar), 125.6 (2 C, Ar), 125.4 (2 CH, Ar), 124.7 (2 CH, Ar), 124.6 (2 CH, Ar), 124.1 (2 C, Ar), 122.6 (2 CH, Ar), 120.6 (2 CH, Ar), 117.7 (C, Ar), 98.6 (O-CH-O), 81.1 (CH-1), 80.6 (CH-4), 74.9 (CH-3), 67.8 (CH₂-6), 67.5 (CH-5), 55.6 (OCH₃), 43.4 (2 CH₂-C=O), 34.8 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₅₆H₄₈N₃O₆S [M+NH₄]⁺: 890.32583, encontrada 890.32434.

Compuesto 18.

El tioglicósido **H6** (240 mg, 0.27 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (61 mg, 0.28 mmol) de acuerdo a las condiciones descritas en el *procedimiento general VIII* (-78 °C → -50 °C, 3.5 h). El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/tolueno/AcOEt 4:1:5) para rendir una mezcla

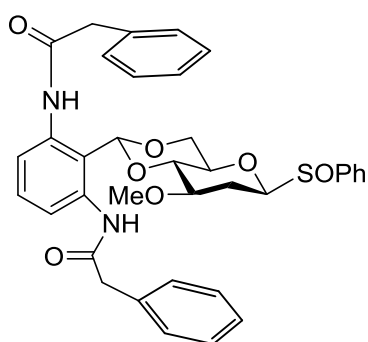
inseparable de sulfóxidos epiméricos (190 mg, 78 %). **¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.21-7.51 (m, 27.75H), 7.31 (t, *J* = 8.3 Hz, 0.75H), 4.44-4.16 (m, 5.25H), 2.58 (dd, *J* = 10.5, 4.9 Hz, 0.25H), 2.49 (dd, *J* = 12.0, 2.7 Hz, 1H, H-1), 2.37 (dd, *J* = 10.6, 5.3 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H, OCH₃), 2.14 (s, 0.75H, OCH₃), 2.06 (t, *J* = 10.3 Hz, 0.25H), 1.65-1.48 (m, 1.25H), 1.30-1.14 (m, 1.25H), 1.12-0.99 (m, 0.25H), 0.97-0.76 (m, 1.25H), 0.82 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 0.39 (td, *J* = 9.8, 5.1 Hz, 0.25H), 0.29-0.09 (m, 1.25H), -0.18 (q, *J* = 11.9 Hz, 0.25H); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.42, 169.36, 141.3, 139.3, 136.03, 135.96, 131.9, 131.4, 131.11, 131.07, 131.02, 130.94, 130.6, 130.5, 129.9, 129.8, 129.7, 129.3, 129.04, 128.98, 128.8, 128.7, 128.0, 127.8, 127.2, 127.1, 126.5, 125.9, 125.8, 125.6, 124.93, 124.87, 124.84, 124.34, 124.25, 123.8, 123.0, 120.6, 117.2, 117.1, 99.2, 99.0, 89.8, 89.6, 80.9, 80.3, 74.8, 74.6, 68.8, 68.1, 67.8, 67.3, 56.2, 55.9, 43.9, 43.6, 28.3, 27.5. **HRMS (ESI) *m/z*** calculada para C₅₆H₄₈N₃O₇S [M+NH₄]⁺: 906.32075, encontrada 906.32130.

Compuesto H7.

Una disolución del di-aminoderivado **H5** (194 mg, 0.5 mmol) en DCM anhidro (5 mL) se trató a 0 °C con Et₃N (0.28 mL, 2.0 mmol) bajo atmósfera de argón. A continuación, se añadió una disolución recién preparada de cloruro de fenilacetilo (193 mg, 1.25 mmol) en DCM anhidro (2.5 mL). La mezcla resultante se agitó durante 4

días hasta que no se detectó producto de partida por TLC, momento en el cual, se detuvo la reacción por adición de MeOH, y el crudo se llevó a sequedad. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/AcOEt 6:4 → 5:5) para rendir el derivado **H7** (214 mg, 68 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.28 (s, 2H, 2 NH), 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar), 7.56 (dt, *J* = 6.3, 2.1 Hz, 2H, Ar), 7.48-7.38 (m, 3H, Ar), 7.34-7.24 (m, 9H, Ar), 7.22-7.13 (m, 2H, Ar), 5.09 (s, 1H, O-CH-O), 4.67 (dd, *J* = 12.0, 2.1 Hz, 1H, H-1), 3.68 (s, 4H, 2 CH₂-C=O), 3.62 (dd, *J* = 10.5, 4.7 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 3.19-3.04 (m, 2H, H-3, H-6_{ax}), 2.82 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 2.51-2.35 (m, 2H, H-5, H-2_{eq}), 1.56 (td, *J* = 12.7, 10.9 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.1 (2 C=O), 136.2 (2 C, Ar), 134.7 (2 C, Ar), 132.9 (C, Ar), 132.5 (2 CH, Ar), 129.9 (C, Ar), 129.6 (4 CH, Ar), 129.0 (4 CH, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.2 (2 CH, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 120.4 (2 CH, Ar), 99.8 (O-CH-O), 82.8 (CH-1), 81.7 (CH-4), 77.1 (CH-3), 69.7 (CH-5), 68.8 (CH₂-6), 57.3 (OCH₃), 45.1 (2 CH₂-C=O), 36.4 (CH₂-2). **HRMS (ESI) *m/z*** calculada para C₃₆H₄₀N₃O₆S [M+NH₄]⁺: 642.26323, encontrada 642.26538.

Compuesto 19.



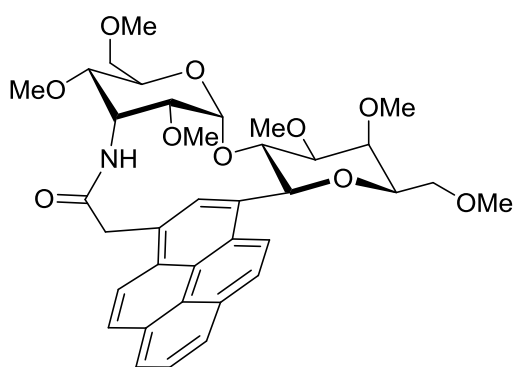
El tioglicósido **H7** (128 mg, 0.205 mmol) se oxidó con *m*-CPBA (77 %) (46 mg, 0.205 mmol) de acuerdo al *procedimiento general VIII* (-78 °C → -50 °C, 2.5 h) para rendir una mezcla diastereomérica de sulfóxidos separables mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 5:5 → AcOEt). Para el **primer**

sulfóxido eluido (57 mg, 43 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.15 (s, 2H, 2 NH), 7.79-7.68 (m, 4H, Ar), 7.68-7.61 (m, 3H, Ar), 7.34-7.20 (m, 9H, Ar), 7.10 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, Ar), 5.08 (s, 1H, O-CH-O), 4.00 (dd, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 1H, H-1), 3.69 (s, 4H, 2 CH₂-C=O), 3.54 (dd, *J* = 10.5, 4.8 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 3.07 (m, 2H, H-3, H-6_{ax}), 2.85 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 2.34 (dt, *J* = 12.8, 4.7, 2.1 Hz, 1H, H-2_{eq}), 2.25

(td, $J = 9.8, 4.9$ Hz, 1H, H-5), 1.74 (ddd, $J = 13.0, 12.0, 10.8$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.1 (C=O), 140.9 (C, Ar), 136.2 (2 C, Ar), 134.8 (2 C, Ar), 131.7 (2 CH, Ar), 130.1 (C, Ar), 129.6 (4 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 129.1 (4 CH, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 124.7 (2 CH, Ar), 120.7 (2 CH, Ar), 100.0 (O-CH-O), 92.3 (CH-1), 81.4 (CH-4), 77.2 (CH-3), 70.4 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 57.3 (OCH₃), 45.1 (2 CH₂-C=O), 28.4 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₆H₃₆N₂NaO₇S [M+Na]⁺ 663.21354, encontrada 663.21462. Para el **segundo sulfóxido** (32 mg, 24 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.12 (s, 2H, 2 NH), 7.84-7.51 (m, 7H, Ar), 7.44-7.20 (m, 9H, Ar), 7.13 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, Ar), 4.98 (s, 1H, O-CH-O), 4.30 (dd, $J = 12.1, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 3.68 (s, 4H, 2 CH₂-C=O), 3.62 (dd, $J = 10.4, 4.9$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.23 (s, 3H, OCH₃), 3.13-2.90 (m, 2H, H-3, H-6_{ax}), 2.63 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-4), 2.45 (td, $J = 9.7, 4.8$ Hz, 1H, H-5), 2.29 (dd, $J = 13.0, 4.0$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.20 (q, $J = 13.0, 11.0, 10.0$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.1 (2 C=O), 138.6 (2 C, Ar), 136.2 (2 C, Ar), 134.8 (2 CH, Ar), 131.9 (2 CH, Ar), 129.6 (4 CH, Ar), 129.0 (4 CH, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 125.7 (2 CH, Ar), 124.6 (C, Ar), 120.6 (2 CH, Ar), 117.4 (C, Ar), 100.0 (O-CH-O), 89.5 (CH-1), 81.7 (CH-4), 77.2 (CH-3), 70.6 (CH-5), 68.4 (CH₂-6), 57.5 (OCH₃), 45.1 (2 CH₂-C=O), 28.5 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₆H₃₆N₂NaO₇S [M+Na]⁺: 663.21354, encontrada 663.21570.

5.5.- EXPERIMENTOS EN TUBO DE RMN.

5.5.1.- GLICOSILACIONES EN 2 PASOS: PROTOCOLO DE PRE-ACTIVACIÓN.



Una disolución del disacárido donador **1** en CDCl₃ (500 μ L, 10 mM) se transfirió a un tubo de 5 mm de RMN equipado con un septum y purgado con argón. A continuación, se enfrió a 0 °C y después de la adición de ácido triflico (1 μ L), la muestra se transfirió inmediatamente al

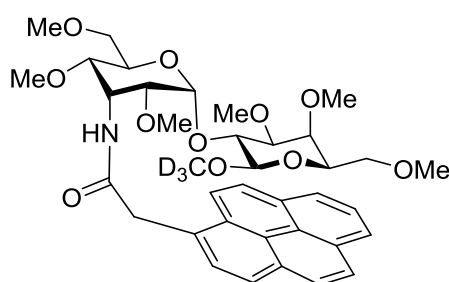
imán, previamente equilibrado a 5 °C, donde se observó un ensanchamiento de las señales en ¹D-1H-RMN. Transcurridos 5 minutos, la reacción se detuvo mediante la adición de 5 µL de CD₃OD y se volvió a meter en el imán. Se detectó un nuevo producto mayoritario; sin embargo, todos los intentos de aislarlo no tuvieron éxito. Tanto su RMN como la espectrometría de masas sugieren que el producto mayoritario es un C-glicósido macrocíclico altamente tensionado: **C-glicósido: ¹H-RMN (600 MHz, 5 °C, CDCl₃)** (picos seleccionados) δ: 5.66 (1H, H-1'), 5.12 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-1), 4.89 (1H, H-3'), 4.82 (1H, CH_{2a}-C=O), 4.77 (1H, CH_{2b}-C=O), 4.36 (1H, H-2), 3.99 (1H, H-4), 3.96 (1H, H-5), 3.75 (1H, H-2'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (2H, 2 H-6), 3.66 (1H, H-4'), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (1H, H-3), 3.52 (1H, H-6_a'), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.47 (1H, H-6_b'), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.29 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (1H, H-5'); **¹³C-RMN (150 MHz, 5 °C, CDCl₃)** (picos seleccionados) δ: 97.6 (CH-1'), 85.2 (CH-3), 80.1 (CH-1), 77.4 (CH-5), 74.5 (CH-4), 73.3 (CH-4'), 71.4 (CH-2), 71.0 (CH₂-6), 70.8 (CH-5'), 69.0 (CH₂-6'), 67.2 (CH-2'), 61.3 (OCH₃), 59.3 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 57.7 (OCH₃), 57.5 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 48.0 (CH-3'); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₆H₄₄NO₁₀ [M+H]⁺ 650.29597, encontrada 650.29641.

5.5.2.- GLICOSILACIONES EN UN PASO: ACTIVACIÓN EN PRESENCIA DE 1 % DE CD₃OD: REACCIONES DE METANÓLISIS.

Una solución madre que contenía CD₃OD (1 % v/v) en CDCl₃ (450 µL) se transfirió a un tubo de RMN de 5 mm equipado con un septum y purgado con argón. Las disoluciones de un donador concreto (**1-9** para ensayos individuales) o una combinación de donadores (para experimentos de competición) en CDCl₃ (50 µL, 100 mM) se adicionaron al tubo y se agitaron para mezclarlas. Los conjuntos de datos 1D-1H y 2D-HSQC se registraron para la mezcla de partida a la temperatura de trabajo adecuada (5 o 25 °C). Tras la adición de ácido triflico (3-5 µL) en un baño de hielo, la muestra se transfirió al imán. La evolución temporal

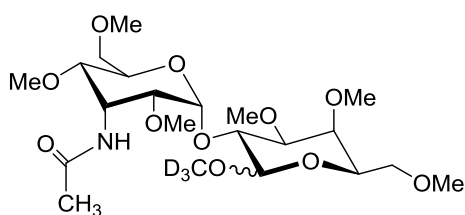
de las mezclas fue seguida por experimentos secuenciales 1D-1H y 2D-HSQC. La reacción se detuvo finalmente mediante la adición de 100 μL de NaHCO_3 saturado en D_2O . La identidad de los productos de metanólisis se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros 1D y 2D-RMN y se confirmó adicionalmente mediante espectrometría de MS.

Metanólisis del derivado 1.



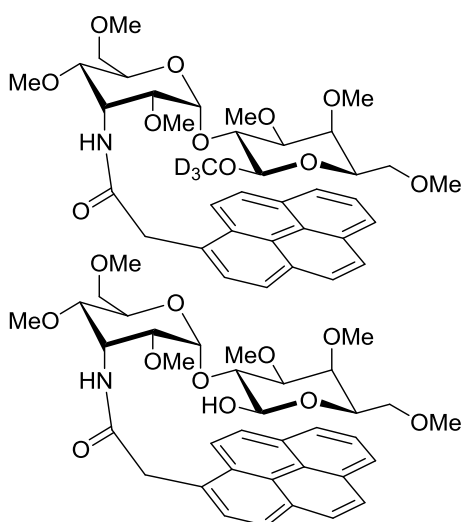
Para la metanólisis del derivado **1**, se detectó un único β -glicósido. **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{D}_3\text{NO}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 685.34102, encontrada: 685.33423.

Metanólisis del derivado 4.



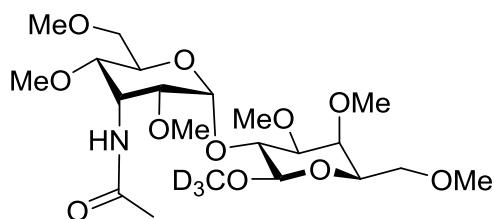
Para la metanólisis del derivado **4**, se formaron una mezcla α/β de glicósidos en relación 1:2. **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{D}_3\text{NO}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 485.27842, encontrada: 485.27657.

Metanólisis del derivado 3.



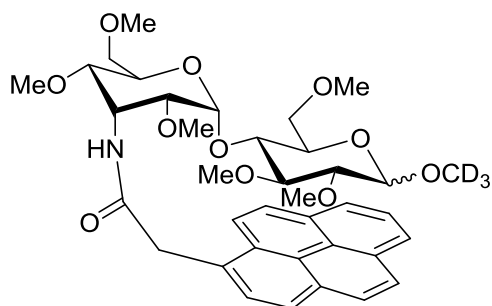
Para la metanólisis del derivado **3**, se observó una cinética de reacción muy lenta que se traduce en una observación del material de partida prácticamente sin reaccionar. Los picos atribuibles al derivado hemiacetálico se pudieron observar tras 4 h de reacción. Para el producto de desacetilación **EI-MS (modo positivo): m/z = 686.3** $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ y para el producto de metanólisis **EI-MS (modo positivo): m/z = 707.2** $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Metanólisis del derivado 5.



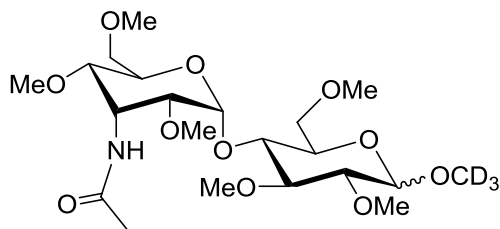
Para metanólisis de **5**, la reacción se completó tras 65 minutos y sólo se detectó el glicósido β. **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₃₇D₃NO₁₁ [M+H]⁺: 485.27842, encontrada: 485.27334.

Metanólisis del derivado 6.



Para la metanólisis de **6**, la reacción se completó después de 60 minutos y se formó una mezcla α/β de glicósidos: **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₇H₄₄D₃NNaO₁₁ [M+Na]⁺: 707.32296, encontrada: 707.32413.

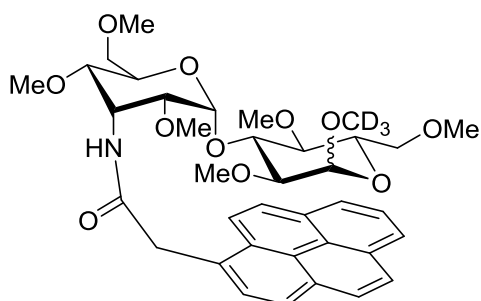
Metanólisis del derivado 7.



encontrada: 507.26140.

Para la metanólisis de **7**, la reacción se completó después de 60 minutos y se formó una mezcla α/β de glicósidos: **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₁H₃₆D₃NNaO₁₁ [M+Na]⁺: 507.26036,

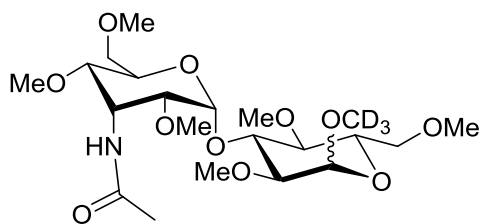
Metanólisis del derivado 8.



encontrada: 707.32326.

Para la metanólisis de **8**, la reacción no se llegó a completar tras 550 minutos, observándose todavía material de partida, así como una mezcla α/β de glicósidos: **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₇H₄₄D₃NNaO₁₁ [M+Na]⁺: 707.32296,

Metanólisis del derivado 9.

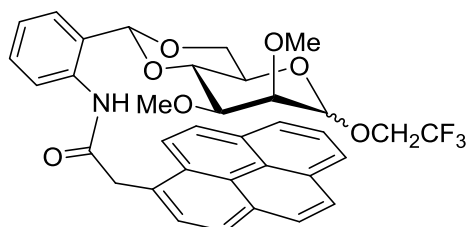


Para la metanólisis del derivado **9**, la reacción se completó después de 190 minutos y se formó una mezcla α/β de glicósidos: **HRMS (ESI) m/z** calculada para $C_{21}H_{36}D_3NNaO_{11}$ $[M+Na]^+$:

507.26036, encontrada: 507.26073.

5.6.-GLICOSILACIONES CON DONADORES DE TIPO SULFÓXIDO.

Compuesto 20.

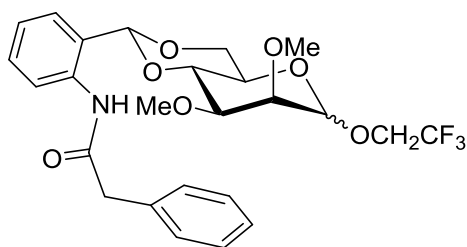


Siguiendo el *procedimiento general XIII* ($-78\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow -60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **10** (93 mg, 0.15 mmol) y trifluoroetanol (0.09 mL, 1.2 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en

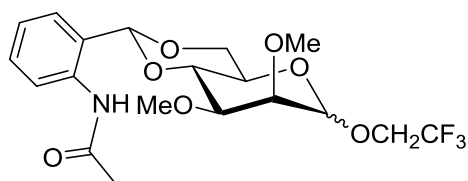
columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 6:4) para dar una mezcla de glicósidos 1:1 **20 α /20 β** (49 mg, 51 %). Picos seleccionados para **20 α** : **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 5.14 (s, 1H, O-CH-O), 4.92 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H-1), 3.51 (d, $J = 17$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-C=O}$), 3.43 (d, $J = 17$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-C=O}$), 3.92-3.80 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$, H-4), 3.71 (dd, $J = 3.3, 1.7$ Hz, 1H, H-2), 3.59 (dd, $J = 9.9, 3.3$ Hz, 1H, H-3), 3.62-3.48 (m, 2H, H-6_a, H-5), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.07-3.02 (m, 1H, H-6_b); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 123.6 (q, $J = 278.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 100.2 (O-CH-O), 99.0 (CH-1), 78.3 (CH-4), 77.4 (CH-2), 77.3 (CH-3), 68.1 (CH₂-6), 64.3 (q, $J = 35.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 64.3 (CH-5), 62.0 (OCH₃), 58.59 (OCH₃), 43.8 (CH₂-C=O). Picos seleccionados para **20 β** : **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 5.00 (s, 1H, O-CH-O), 4.46 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-C=O}$), 4.40 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-C=O}$), 3.97-3.87 (m, 1H, H-4, $\text{CH}_{2a}\text{-CF}_3$), 3.71 (dd, $J = 3.3, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 3.56 (s, 3H, OCH₃), 3.54-3.45 (m, 1H, H-6_{ax}), 3.39-3.31 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-CF}_3$), 3.18 (dd, $J = 10.4, 5.3$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.06 (s, 3H, OCH₃), 2.97 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-1), 1.85 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz, 1H, H-3),

1.14 (td, $J = 9.8, 5.3$ Hz, 1H, H-5); ^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3) δ 123.6 (q, $J = 278.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$) 104.3 (O-CH-O), 78.7 (CH-3), 78.0 (CH-4), 77.5 (CH-2), 68.1 ($\text{CH}_2\text{-6}$), 65.8 (q, $J = 35.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 65.7 (CH-5), 60.0 (CH_3), 57.9 (CH_3), 43.7 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$). HRMS (ESI) m/z calculada para $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{FNaO}_7$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 658.20231, encontrada: 658.20505.

Compuesto 21.



Siguiendo el *procedimiento general XIII* ($-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow -60\text{ }^\circ\text{C}$, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **12** (120 mg, 0.22 mmol) y trifluoroetanol (0.13 mL, 1.79 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 7:3) para dar una mezcla de glicósidos 1.3:3 **21 α /21 β** (82 mg, 73 %). Para **21 β** : ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8.44 (s, 1H, NH), 8.29-8.20 (m, 1H, Ar), 7.47-7.38 (m, 4H, Ar), 7.38-7.27 (m, 3H, Ar), 7.07 (tdd, $J = 7.7, 3.5, 1.2$ Hz, 1H, Ar), 5.28 (s, 1H, O-CH-O), 4.58 (s, 1H, H-1), 4.31-4.10 (m, 1H,), 4.06-3.96 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$, H-6_{eq}), 3.90 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H, H-4), 3.82 (dt, $J = 3.1, 1.6$ Hz, 1H, H-2), 3.75 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.62 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.48 (s, 3H, OCH_3), 3.23 (dd, $J = 9.8, 3.1$ Hz, 1H, H-3), 2.88 (td, $J = 9.8, 4.9$ Hz, 1H, H-5); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 169.2 (C=O), 136.0 (C, Ar), 135.1 (C, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.8 (C, Ar), 129.7 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 124.0 (CH, Ar), 123.6 (q, $J = 278.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 122.5 (CH, Ar), 101.5 (CH-1), 101.4 (O-CH-O), 79.7 (CH-3), 78.1 (CH-4), 77.6 (CH-2), 68.4 ($\text{CH}_2\text{-6}$), 67.1 (CH-5), 66.0 (q, $J = 34.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 62.3 (OCH_3), 58.3 (OCH_3), 45.5 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$). Picos seleccionados para **21 α** : ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 5.32 (s, 1H, O-CH-O), 4.98 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H-1), 3.58 (s, 3H, OCH_3), 3.50 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 100.6 (O-CH-O), 99.3 (CH-1), 60.2 (CH_3), 58.7 (CH_3). HRMS (ESI) m/z calculada para $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{NF}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 512.18906, encontrada: 512.18877.

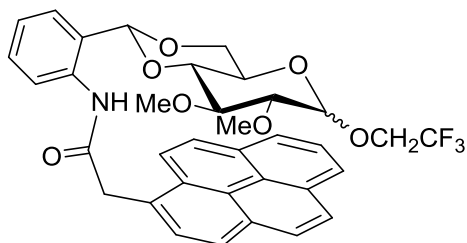
Compuesto 22.

Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **13** (104 mg, 0.225 mmol) y trifluoroetanol (130 μ L, 1.8 mmol). El

crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 5:5 \rightarrow 2:8) para dar **22 α** (13 mg, 22 %) y **22 β** (51 mg, 50 %). Para **22 α** : **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 8.68 (s, 1H, NH), 8.18 (dd, J = 8.3, 1.4 Hz, 1H-Ar), 7.47-7.39 (m, 1H-Ar), 7.39-7.31 (m, 1H-Ar), 7.09 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H-Ar), 5.59 (s, 1H, O-CH-O), 5.01 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, J = 9.9, 4.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.10 (t, J = 9.6 Hz, 1H, H-3), 4.06-3.98 (m, 1H, CH_{2a}-CF₃), 3.98-3.89 (m, 1H, CH_{2b}-CF₃), 3.85 (t, J = 10.1 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.83-3.77 (m, 2H, H-5, H-6), 3.70 (dd, J = 10.1, 3.4 Hz, 1H, H-3), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.50 (s, 3H, OCH₃), 2.18 (s, 3H, NHAc); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 168.2 (C=O), 136.2 (C-Ar), 129.9 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 125.2 (C-Ar), 123.7 (CH, Ar), 123.5, (q, J = 278.5 Hz, CF₃), 122.2 (CH, Ar), 101.2 (O-CH-O), 98.8 (CH-1), 78.2 (CH-4), 77.2 (CH-3), 76.8 (CH-2), 68.6 (CH₂-6), 64.59 (CH-5), 64.56 (q, J = 35.3 Hz, CH₂-CF₃), 59.8 (OCH₃), 57.9 (OCH₃), 24.7 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₂₅F₃NO₇ [M+H]⁺: 436.15776, encontrada: 436.15710. Para **22 β** : **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 8.67 (s, 1H, NH), 8.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H-Ar), 7.53-7.40 (m, 1H-Ar), 7.34 (td, J = 7.6, 1.7 Hz, 1H-Ar), 7.08 (t, J = 7.6 Hz, 1H-Ar), 5.56 (s, 1H, O-CH-O), 4.66 (s, 1H, H-1), 4.39 (dd, J = 10.6, 4.8 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.21 (dq, J = 12.4, 8.8 Hz, 1H, CH_{2a}-CF₃), 3.03 (t, J = 9.9, 9.2 Hz, 1H, H-4), 3.99-3.94 (m, 1H, CH_{2b}-CF₃), 3.92 (t, J = 10.6 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.89 (d, J = 3.1 Hz, 1H, H-2), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.41 (dd, J = 9.9, 3.1 Hz, 1H, H-3), 3.37 (td, J = 10.6, 9.2, 4.8 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H, NHAc); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 168.4 (C=O), 136.3 (C-Ar), 130.0 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 125.3 (C-Ar), 123.8 (CH, Ar), 123.6 (q, J = 278.5 Hz, CF₃), 101.9 (CH-1), 101.0 (O-CH-O), 79.7 (CH-3), 77.9 (CH-4), 77.0 (CH-2), 68.5 (CH₂-6), 67.6 (CH-5), 66.3 (OCH₃), 66.2 (q, J = 34.9 Hz, CH₂-CF₃),

57.6 (OCH₃), 25.0 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₁₉H₂₅F₃NO₇ [M+H]⁺: 436.15776, encontrada: 436.15710.

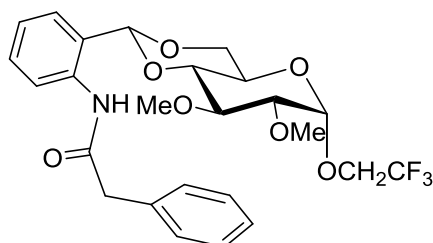
Compuesto 23.



Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 120 min), se acoplaron el sulfóxido **11** (92 mg, 0.14 mmol) y trifluoroetanol (80 μL, 1.11 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1 → 7:3) para dar **23α** (34 mg, 38 %) y **23β** (18 mg, 20 %). Para **23α**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.3 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.3-8.2 (m, 4H, Ar), 8.1 (d, *J* = 0.9 Hz, 2H, Ar), 8.1-8.0 (m, 3H, Ar), 7.8 (s, 1H, NH), 7.4-7.3 (m, 2H, Ar), 7.1 (td, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 1H, Ar), 4.74 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.68 (s, 1H, O-CH-O), 4.51 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.47 (dd, *J* = 16.6, Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.9-3.7 (m, 2H, CH₂-CF₃), 3.4 (s, 3H, OCH₃), 3.3 (s, 3H, OCH₃), 3.3-3.2 (m, 3H, H-3, H-5, H-6_{eq}), 2.7 (dd, *J* = 9.3, 3.8 Hz, 1H, H-2), 2.3 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-4), 2.2 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.7 (C=O), 135.2 (C, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.48 (C, Ar), 130.93 (C, Ar), 129.92 (C, Ar), 129.7 (CH, Ar), 128.91 (CH, Ar), 128.86 (CH, Ar), 128.3 (C, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 126.9 (C, Ar), 126.5 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 125.7 (CH, Ar), 125.4 (CH, Ar), 124.8 (C, Ar), 124.7 (C, Ar), 123.63 (q, *J*=280.Hz, CH₂-CF₃), 124.64 (CH, Ar), 123.5 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 98.6 (O-CH-O), 97.8 (CH-1), 81.0 (CH-4), 80.6 (CH-2), 78.6 (CH-3), 67.9 (CH₂-6), 65.0 (q, *J* = 35.0 Hz, CH₂-CF₃), 62.1 (CH-5), 60.8 (OCH₃), 60.0 (OCH₃), 43.8 (CH₂-C=O); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₅H₃₂F₃NNaO₇ [M+Na]⁺: 658.20231, encontrada: 658.20068. Para **23β**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.35 (s, 1H, NH), 8.33 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.32 (s, 1H, Ar), 8.30 (s, 1H, Ar), 8.28-8.19 (m, 5H, Ar), 8.10-8.04 (m, 2H, Ar), 7.41-7.34 (m, 1H, Ar), 7.15 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.08-6.99 (m, 1H, Ar), 4.77 (s, 1H, O-CH-O), 4.51 (dd, *J* = 17.2 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.49 (d, *J* = 17.2, Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.75

(dq, $J = 12.1, 8.6$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{2a}\text{-CF}_3$), 3.56-3.41 (m, 1H, $\underline{\text{CH}}_{2b}\text{-CF}_3$), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 3.25 (s, 3H, OCH₃), 2.85 (dd, $J = 10.4, 5.2$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.48 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, H-4), 2.47 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-2), 2.40 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.37 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-3), 1.56-1.51 (m, 1H, H-5); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.5 (C=O), 135.9 (C, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.06 (CH, Ar), 130.07 (C, Ar), 129.3 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 128.2 (C, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.03 (CH, Ar), 126.00 (CH, Ar), 125.5 (C, Ar), 125.32 (CH, Ar), 125.29 (C, Ar), 124.7 (C, Ar), 124.2 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 122.79 (CH, Ar), 121.77 (q, $J = 278.0$ Hz, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CF}_3$), 103.1 (O-CH-O), 101.9 (CH-1), 83.0 (CH-2), 81.36 (CH-3), 80.40 (CH-4), 67.9 (CH₂-6), 66.0 (q, $J = 34.6$ Hz, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CF}_3$), 64.3 (CH-5), 60.63 (OCH₃), 60.59 (OCH₃), 43.7 (CH₂-C=O). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₅H₃₃F₃NO₇[M+H]⁺: 636.22036, encontrada: 636.2234.

Compuesto 24.

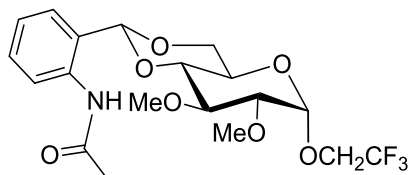


Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **14** (125 mg, 0.23 mmol) y trifluoroetanol (130 μ L, 1.86 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de

gel de sílice (tolueno/acetona 95:5 → 9:1) para dar exclusivamente **24 α** (44 mg, 37 %): **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.24 (s, 1H, NH), 8.13 (dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H, Ar), 7.46-7.30 (m, 7H, Ar), 7.10 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H, Ar), 5.24 (s, 1H, O-CH-O), 5.05 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.07-3.93 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CF}_3$), 4.00 (dd, $J = 9.6, 5.2$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.78 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-C=O}$), 3.72 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-C=O}$), 3.73-3.78 (m, 1H, H-5), 3.62 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-3), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-4), 3.33-3.26 (m, 2H, H-2, H-6_{ax}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 135.7 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.6 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.5 (q, $J = 280.0$ Hz, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CF}_3$), 126.5

(CH, Ar), 126.0 (C, Ar), 124.2 (CH, Ar), 122.8 (CH, Ar), 100.2 (O-CH-O), 98.2 (CH-1), 81.6 (CH-4), 81.4 (CH-2), 79.1 (CH-3), 68.7 (CH₂-6), 65.4 (q, $J = 35.2$ Hz, CH₂-CF₃), 63.0 (CH-5), 61.3 (OCH₃), 59.1 (OCH₃), 45.3 (CH₂-C=O); **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₅H₂₉F₃NO₇ [M+H]⁺: 512.18906, encontrada: 512.18842.

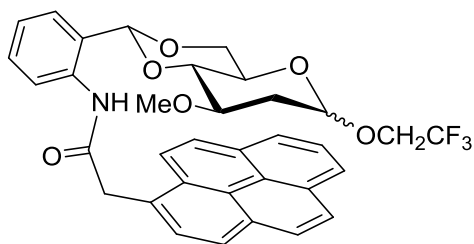
Compuesto 25.



Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **15** (104 mg, 0.23 mmol) y trifluoroetanol (130 μL, 1.8 mmol). El

crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 5:5 → 8:2) para dar exclusivamente **25α** (50 mg, 51 %): **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃)** δ 8.54 (s, 1H, NH), 8.13 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, Ar), 7.52-7.29 (m, 2H, Ar), 7.10 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, Ar), 5.52 (s, 1H, O-CH-O), 5.07 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.34 (dd, $J = 10.0$, 4.5 Hz, 1H, H-6_{eq}), 4.01 (qt, $J = 8.6$, 4.2 Hz, 2H, CH₂-CF₃), 3.85 (td, $J = 9.8$, 4.5 Hz, 1H, H-5), 3.73 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.68-3.47 (m, 2H, H-3, H-4), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.36 (dd, $J = 9.0$, 3.7 Hz, 1H, H-2), 2.17 (s, 3H, NHAc); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** δ 168.1 (C=O), 136.0 (C, Ar), 129.9 (CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 125.4 (C, Ar), 123.8 (CH, Ar), 123.5 (q, $J = 278.6$ Hz, CH₂CF₃), 122.5 (CH, Ar), 101.0 (O-CH-O), 97.9 (CH-1), 81.7 (CH-2), 81.2 (CH-3), 79.1 (CH-4), 68.8 (CH₂-6), 65.2 (q, $J = 35.1$ Hz, CH₂CF₃), 63.0 (CH-5), 61.1 (OCH₃), 58.9 (OCH₃), 24.5 (NHAc). **HRMS (ESI) m/z** calculada para [M+H]⁺: C₁₉H₂₅F₃NO₇ 436.15776, encontrada 436.15710.

Compuesto 26.

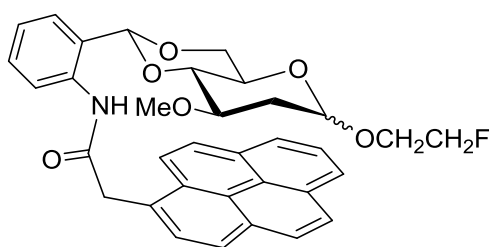


Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 60 min), se acoplaron el sulfóxido **16** (100 mg, 0.15 mmol) y trifluoroetanol (0.05 mL, 0.31 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 7:3) para dar **26α** (37 mg, 41 %) y **26β** (30 mg, 33 %). Para **26α**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.32 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.26-8.17 (m, 4H, Ar), 8.12-8.07 (m, 3H, Ar), 8.06-8.01 (m, 2H, Ar), 7.97 (s, 1H, NH), 7.36-7.30 (m, 2H, Ar), 7.08-7.03 (m, 1H, Ar), 4.81 (s, 1H, O-CH-O), 4.74 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1), 4.51 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.47 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.76 (qd, *J* = 8.7, 5.7 Hz, 2H, CH₂-CF₃), 3.39 (ddd, *J* = 11.1, 9.1, 5.1 Hz, 1H, H-3), 3.36-3.28 (m, 2H, H-6_{eq}, H-5), 3.17 (s, 3H, OCH₃), 2.52 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-4), 2.36 (t, *J* = 12.0 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.14 (ddd, *J* = 13.3, 5.1, 1.2 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.19 (ddd, *J* = 13.3, 11.1, 3.7 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C=O), 136.2 (C, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.3 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.4 (CH, Ar), 128.4 (C, Ar), 128.38 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.2 (CH, Ar), 125.1 (C, Ar), 124.7 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 123.6 (q, *J* = 278.4 Hz, CH₂-CF₃), 123.5 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 103.1 (O-CH-O), 99.1 (CH-1), 82.1 (CH-4), 75.2 (CH-3), 68.2 (CH₂-6), 65.3 (q, *J* = 34.9 Hz, CH₂-CF₃), 64.9 (CH-5), 57.4 (CH₂-C=O), 43.8 (CH₃), 35.7 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₄H₃₁F₃NO₆ [M+H]⁺: 606.2098, encontrada: 606.21211. Para **26β**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.42 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.36 (s, 1H, NH), 8.32 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.29-8.17 (m, 4H, Ar), 8.12 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H, Ar), 8.11-8.04 (m, 2H, Ar), 7.37 (ddd, *J* = 8.7, 7.5, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.11 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.02 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.86 (s, 1H, O-CH-O), 4.53 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 4.48 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.56 (ddq, *J* = 156.6, 12.2, 8.7 Hz, 2H, CH₂-CF₃), 3.19 (dd, *J* = 9.9, 2.5 Hz, 1H, H-1), 3.04 (dd, *J* = 10.4, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.01 (s, 3H, OCH₃), 2.67 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.62 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-4), 2.12 (ddd, *J* = 11.2, 9.0, 5.2 Hz, 1H, H-3), 1.67 (ddd, *J* = 12.9, 5.2, 2.5 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.29 (ddd, *J* = 17.1, 11.2, 6.3 Hz, 1H, H-5), 0.95 (ddd, *J* = 12.9, 11.2, 9.9 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.3 (C, Ar), 136.2 (C, Ar), 131.3 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.4 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.4 (C, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.1

(CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.9 (CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.2 (CH, Ar), 125.1 (C, Ar), 124.7 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 123.6 (q, $J = 278.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 123.5 (CH, Ar), 122.6 (CH, Ar), 103.1 (O-CH-O), 99.1 (CH-1), 82.1 (CH-4), 75.2 (CH-3), 68.2 (CH_2 -6), 65.4 (q, $J = 34.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CF}_3$), 65.3 (CH-5), 57.4 (CH₃), 43.8 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 35.7 (CH_2 -2); **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{NO}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 606.20980, encontrada: 606.20780.

Compuesto 27.

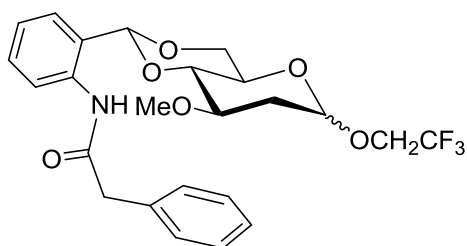


Siguiendo el *procedimiento general XIII* ($-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow -60\text{ }^\circ\text{C}$, 120 min), se acoplaron el sulfóxido **16** (90 mg, 0.14 mmol) y 2-fluoroetanol (50 μL , 0.83 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 6:4) para dar **27 α** (27 mg, 35 %) y **27 β** (26 mg, 32 %). Para **27 α** : **^1H RMN (500 MHz, CDCl_3)** δ 8.34 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, Ar), 8.26-8.16 (m, 4H, Ar), 8.13 (s, 1H, NH), 8.12 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, Ar), 8.09-8.02 (m, 4H, Ar), 7.36-7.28 (m, 2H, Ar), 7.05 (td, $J = 7.5, 1.3$ Hz, 1H, Ar), 4.91 (s, 1H, O-CH-O), 4.77 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.58-4.42 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.72 (dddd, $J = 31.3, 12.3, 4.9, 3.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.60 (dddd, $J = 28.3, 12.3, 5.6, 3.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.47 (m, 3H, H-3, H-6_{eq}, H-5), 3.19 (s, 3H, OCH₃), 2.69 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-4), 2.58 (t, $J = 11.7$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 2.21-2.12 (m, 1H, H-2_a), 1.33-1.20 (m, 1H, H-2_b); **^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3)** δ 169.6 (C=O), 135.5 (C, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 130.0 (C, Ar), 129.9 (C, Ar), 129.7 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.5 (C, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.7 (C, Ar), 126.41 (CH, Ar), 126.40 (CH, Ar), 125.7 (2 CH, Ar), 125.3 (CH, Ar), 124.8 (C, Ar), 124.4 (CH, Ar), 123.4 (CH, Ar), 123.1 (CH, Ar), 99.6 (O-CH-O), 98.1 (CH-1), 83.0 (CH-4), 82.7 (d, $J = 171.04$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 73.8 (CH-3), 68.5 (CH_2 -6), 66.6 (d, $J = 19.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 62.4 (CH-5), 57.9 (OCH₃), 43.8 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 35.3 (CH_2 -2); **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{FNNaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 592.21059,

encontrada: 592.21153. Para **27 β** : $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.43 (d, J = 8.51 Hz, 1H, Ar), 8.42 (s, 1H, NH), 8.33 (d, J = 9.2 Hz, 1H, Ar), 8.27-8.18 (m, 4H, Ar), 8.12 (d, J = 2.9 Hz, 2H, Ar), 8.10-8.04 (m, 2H, Ar), 7.36 (ddd, J = 8.7, 7.4, 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.13 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H, Ar), 7.02 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H, Ar), 4.91 (s, 1H, O-CH-O), 4.55-4.44 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.71-3.58 (m, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.52-3.40 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-CH}_2\text{-F}$), 3.31 (dd, J = 9.8, 2.3 Hz, 1H, H-1), 3.15 (dd, J = 10.3, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.00 (s, 3H, OCH_3), 2.79 (t, J = 10.3 Hz, 1H, H6_{ax}), 2.73 (t, J = 9.2 Hz, 1H, H-4), 2.19-2.09 (m, 1H, H-3), 1.69 (ddd, J = 12.8, 5.2, 2.3 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.47 (td, J = 9.2, 5.2 Hz, 1H, H-5), 1.00 (ddd, J = 12.8, 11.3, 9.8 Hz, 1H, H-2_{ax}); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 169.4 (C=O), 136.3 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 131.3 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 130.2 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 128.37 (C, Ar), 128.35 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 126.0 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 125.3 (C, Ar), 125.20 (CH, Ar), 125.15 (C, Ar), 124.7 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 123.4 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 103.1 (O-CH-O), 99.5 (CH-1), 82.8 (d, J = 168.5 Hz $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 82.3 (CH-4), 82.1 (CH-3), 75.5 (CH₂-6), 68.0 (d, J = 20.2 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$), 64.9 (CH-5), 57.3 (OCH_3), 43.9 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$), 36.1 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{FNO}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 570.22864, encontrada: 570.22848.

Compuesto 28.

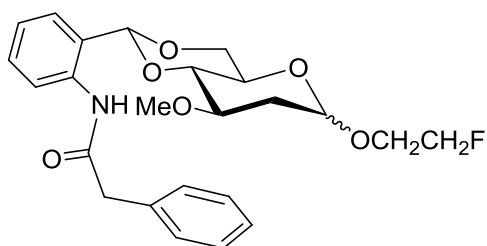


Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C \rightarrow -40 °C, 200 min), se acoplaron el sulfóxido **17** (75 mg, 0.15 mmol) y trifluoroetanol (86 μL , 1.18 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 \rightarrow 6:4) para dar **28 α** (30 mg, 42 %) y **28 β** (13 mg, 18 %). Para **28 α** : $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.81 (s, 1H, NH), 8.15 (dd, J = 8.3, 1.2 Hz, 1H, Ar), 8.44 (t, J = 7.6 Hz, 1H, Ar), 8.15 (dd, J = 8.3, 1.2 Hz, 1H, Ar), 7.44-7.29 (m, 5H, Ar), 7.09 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H, Ar), 5.33 (s, 1H, O-CH-O),

5.01 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.00-3.97 (m, 1H, H-6_a), 3.98-3.88 (m, 2H, CH₂-CF₃), 3.79-3.73 (m, 2H, CH₂-C=O), 3.72-3.78 (m, 2H, H-3, H-5), 3.45 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, H-4), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 3.42-3.35 (m, 1H, H-6_b), 2.42 (ddd, $J = 13.4, 5.1, 1.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.69 (ddd, $J = 13.4, 11.1, 3.7$ Hz, 1H, H-2_{ax}); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 169.4 (C=O), 135.9 (C, Ar), 135.1 (C, Ar), 131.1 (C, Ar), 129.9 (CH, Ar), 129.6 (2 CH, Ar), 129.2 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 125.9 (q, $J = 280$ Hz, CH₂-CF₃), 124.2 (CH, Ar), 122.7 (CH, Ar), 100.6 (O-CH-O), 98.8 (CH-1), 83.0 (CH-4), 73.8 (CH-3), 68.9 (CH₂-6), 64.7 (q, $J = 34.8$ Hz, CH₂-CF₃), 63.5 (CH-5), 58.2 (CH₃), 45.4 (CH₂-C=O), 35.2 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₄H₂₆F₃NNaO₆ [M+Na]⁺: 504.16044, encontrada: 504.16169. Para **28 β** : ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (s, 1H, NH), 8.30-8.14 (m, 1H, Ar), 7.42 (d, $J = 6.1$ Hz, 4H, Ar), 7.39-7.32 (m, 3H, Ar), 7.16-7.04 (m, 1H, Ar), 5.31 (s, 1H, O-CH-O), 4.65 (dd, $J = 9.8, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 4.13 (dq, $J = 12.5, 8.9$ Hz, 1H, CH_{2a}-CF₃), 4.04-3.92 (m, 2H, CH_{2b}-CF₃, H-6_{eq}), 3.79 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H, CH_{2a}-C=O), 3.76 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H, CH_{2b}-C=O), 3.47 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.42-3.27 (m, 2H, H-4, H-3), 2.92 (td, $J = 9.6, 5.0$ Hz, 1H, H-5), 2.45 (ddd, $J = 13.2, 5.1, 2.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.61-1.57 (m, 1H, H-2_{ax}); ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ 169.2 (C=O), 136.0 (C, Ar), 135.2 (C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 125.6 (C, Ar), 124.1 (CH, Ar), 123.7 (q, $J = 280$ Hz, CH₂-CF₃), 122.6 (CH, Ar), 101.3 (O-CH-O), 100.1 (CH-1), 82.2 (CH-4), 76.1 (CH-3), 68.8 (CH₂-6), 68.3 (CH-5), 65.6 (q, $J = 34.6$ Hz, CH₂-CF₃), 57.9 (CH₃), 45.5 (CH₂-C=O), 36.3 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₄H₂₇F₃NO₆ [M+H]⁺: 482.17850, encontrada: 482.17652.

Compuesto 29.

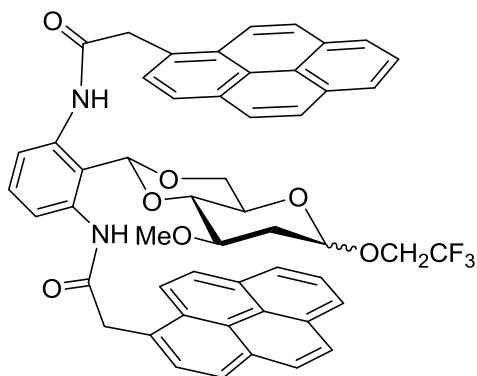


Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 120 min), se acoplaron el sulfóxido **17** (75 mg, 0.14 mmol) y 2-fluoroetanol (40 μ L, 0.75 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2 → 7:3) para dar **29α** (30 mg, 34 %) y **29β** (13 mg, 14 %). Para **29α**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.44 (s, 1H, NH), 8.17 (dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H, Ar), 7.47-7.39 (m, 5H, Ar), 7.38-7.31 (m, 2H, Ar), 7.13-7.05 (m, 1H, Ar), 5.34 (s, 1H, O-CH-O), 4.96 (dd, *J* = 4.0, 1.1 Hz, 1H, H-1), 4.66-4.60 (m, 1H, CH₂-CH_{2a}-F), 4.54 (ddd, *J* = 4.9, 3.2, 1.1 Hz, 1H, CH₂-CH_{2b}-F), 4.01 (dd, *J* = 10.2, 4.6 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.88 (dddd, *J* = 30.7, 12.3, 4.7, 3.2 Hz, 1H, CH_{2a}-CH₂-F), 3.79-3.64 (m, 5H, CH-5, CH-3, CH₂-C=O, CH_{2b}-CH₂-F), 3.46 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-4), 3.43 (t, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.42 (s, 3H, CH₃), 2.39 (ddd, *J* = 13.3, 5.1, 1.3 Hz, 1H, H-2_{eq}), 2.42-2.34 (m, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.2 (C=O), 135.8 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 130.9 (C, Ar), 129.7 (2 CH, Ar), 129.5 (2 CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 123.9 (CH, Ar), 122.4 (CH, Ar), 100.6 (O-CH-O), 98.2 (CH-1), 83.2 (CH-4), 82.5 (d, *J* = 169.7 Hz, CH₂-CH₂-F), 74.0 (CH-3), 69.0 (CH₂-6), 66.6 (d, *J* = 19.35 Hz, CH₂-CH₂-F), 62.8 (CH-5), 57.9 (OCH₃), 45.3 (CH₂-C=O), 35.4 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₄H₂₉FN₆ [M+H]⁺: 446.19734, encontrada: 446.19692. Para **29β**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.46 (s, 1H, NH), 8.23 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar), 7.41 (d, *J* = 5.5 Hz, 4H, Ar), 7.35 (ddd, *J* = 9.9, 7.8, 2.9 Hz, 3H, Ar), 7.08 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 5.30 (s, 1H, O-CH-O), 4.59-4.64 (m, 1H, CH₂-CH_{2a}-F), 4.60 (dd, *J* = 2.2, 9.6 Hz, 1H, H-1), 4.58-4.53 (m, 1H, CH₂-CH_{2b}-F), 4.09-3.98 (m, 1H, CH_{2a}-CH₂-F), 4.01 (dd, *J* = 10.3, 4.8 Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.90-3.80 (m, 1H, CH_{2b}-CH₂-F), 3.78 (d, *J* = 15.9 Hz, 2H, CH_{2a}-C=O), 3.75 (d, *J* = 15.9 Hz, 2H, CH_{2b}-C=O), 3.49 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.41-3.37 (m, 1H, H-4), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 3.34 (td, *J* = 9.6, 9.0, 4.7 Hz, 1H, H-3), 2.92 (td, *J* = 9.6, 4.9 Hz, 1H, H-5), 2.43 (ddd, *J* = 12.5, 9.6, 2.2 Hz, 1H, H-2_a), 1.60-1.56 (m, 1H, H-2_b); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.2 (C=O), 136.1 (C, Ar), 135.1 (C, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.8 (2 CH, Ar), 129.3 (2 CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 125.7 (C, Ar), 124.0 (CH, Ar), 122.5 (CH, Ar), 101.4 (O-CH-O), 100.5 (CH-1), 82.8 (d, *J* = 169.7 Hz, CH₂-CH₂-F), 82.4 (CH-4), 76.4 (CH-3), 69.0 (CH₂-6), 68.5 (d, *J* = 19.8 Hz, CH₂-CH₂-F), 66.3 (CH-

5), 57.7 (OCH₃), 45.5 (CH₂-C=O), 36.6 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₂₄H₂₉FNO₆ [M+H]⁺: 446.19734, encontrada: 446.19580.

Compuesto30.

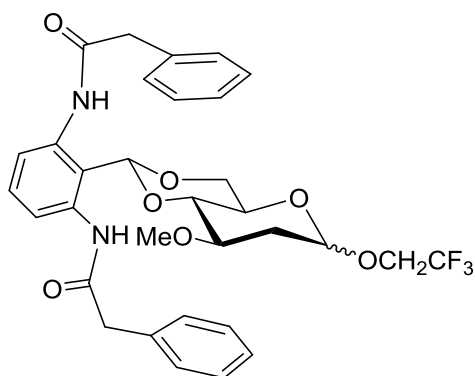


Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 120 min), se acoplaron los sulfóxidos **18** (130 mg, 0.146 mmol) y trifluoroetanol (85 μL, 1.17 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/AcOEt 8:2 → 6:4) para dar **30α** (36 mg, 29

%) y **30β** (32 mg, 25 %). Para **30α**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.21-8.11 (m, 6H, Ar), 8.11-7.94 (m, 15H, Ar), 7.86 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, Ar), 7.79 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar), 7.28 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar), 4.47 (s, 1H, O-CH-O), 4.33 (s, 4H, 2 CH₂-C=O), 4.29 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1), 3.64 (qd, *J* = 8.7, 1.8 Hz, 2H, CH₂-CF₃), 2.86-2.76 (m, 2H, H-3, H-5), 2.64 (dd, *J* = 10.4, 5.2 Hz, 1H, H-6_{eq}), 2.60 (s, 3H, OCH₃), 1.75 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H, H-6_{ax}), 1.69 (dd, *J* = 13.5, 5.2 Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.19 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-4), 0.11 (ddd, *J* = 13.8, 8.6, 3.9 Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.4 (2 C=O), 136.1 (2 C, Ar), 131.3 (2 C, Ar), 131.2 (2 C, Ar), 130.7 (2 C, Ar), 129.8 (CH, Ar), 129.7 (2 C, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.5 (2 CH, Ar), 128.0 (2 C, Ar), 127.7 (2 CH, Ar), 127.2 (3 CH, Ar), 126.2 (2 CH, Ar), 125.6 (2 CH, Ar), 125.5 (2 CH, Ar), 125.1 (2 C, Ar), 124.9 (2 CH, Ar), 124.5 (2 C, Ar), 123.7 (q, *J* = 279.3 Hz, CH₂CF₃), 123.0 (2 CH, Ar), 120.8 (2 CH, Ar), 117.6 (C, Ar), 99.4 (O-CH-O), 98.0 (CH-1), 81.8 (CH-4), 72.0 (CH-3), 67.9 (CH₂-6), 64.2 (q, *J* = 34.6 Hz, CH₂CF₃), 62.0 (CH-5), 56.5 (OCH₃), 43.6 (2 CH₂-C=O), 33.5 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₅₂H₄₅F₃N₃O₇ [M+NH₄]⁺: 880.32041, encontrada: 880.32163. Para **30β**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.12-8.06 (m, 6H, Ar), 8.02 (dd, *J* = 17.0, 8.5 Hz, 4H, Ar), 7.98-7.91 (m, 6H, Ar), 7.86 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, Ar), 7.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar), 7.78 (s, 2H, 2 NH), 7.32 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar), 4.36 (d, *J* = 16.9 Hz, 2H, 2 CH_{2a}-C=O), 4.28 (d, *J* = 17.0 Hz, 2H, CH_{2b}-C=O), 4.15 (s, 1H, O-CH-O), 3.38 (dq, *J* = 11.7, 8.7 Hz, 1H, CH_{2a}-CF₃),

2.99 (dq, $J = 11.7, 8.6$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{2b}\text{-CF}_3$), 2.50 (s, 3H, OCH₃), 2.09-1.99 (m, 2H, H-1, H-6_{eq}), 1.42 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 1.21 (ddd, $J = 11.2, 9.0, 5.1$ Hz, 1H, H-3), 0.96 (ddd, $J = 11.8, 4.8, 2.3$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 0.61 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-4), -0.12 (td, $J = 9.9, 5.1$ Hz, 1H, H-5), -0.34 (td, $J = 12.0, 10.5$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.4 (2 C=O), 135.9 (2 C, Ar), 131.1 (2 C, Ar), 131.0 (2 C, Ar), 130.5 (2 C, Ar), 129.8 (CH, Ar), 129.6 (2 C, Ar), 128.9 (2 CH, Ar), 128.6 (2 CH, Ar), 127.8 (2 CH, Ar), 127.8 (2 CH, Ar), 127.2 (2 CH, Ar), 126.4 (2 C, Ar), 125.7 (2 CH, Ar), 125.6 (2 CH, Ar), 125.0 (2 CH, Ar), 124.9 (2 C, Ar), 124.3 (2 C, Ar), 123.5 (q, $J = 277.5$ Hz, CH_2CF_3), 122.9 (2 CH, Ar), 120.9 (2 CH, Ar), 117.8 (C, Ar), 98.6 (O-CH-O), 97.9 (CH-1), 80.4 (CH-4), 73.7 (CH-3), 67.4 (CH₂-6), 64.8 (q, $J = 34.7$ Hz, $\underline{\text{CH}}_2\text{CF}_3$), 63.2 (CH-5), 56.0 (OCH₃), 43.4 (2 CH₂-Pyr), 34.0 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₅₂H₄₅F₃N₃O₇ [M+NH₄]⁺: 880.32041, encontrada: 880.31925.

Compuesto 31.



Siguiendo el *procedimiento general XIII* (-78 °C → -60 °C, 90 min), se acoplaron el sulfóxido **19** (77 mg, 0.12 mmol) y trifluoroetanol (70 μ L, 0.96 mmol). El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 4:1 → 1:2) para dar **31 α** (12 mg, 16 %) y **31 β** (9 mg, 12 %).

Para **31 α** : **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.30 (s, 2H, 2 NH), 7.82 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, Ar), 7.43-7.27 (m, 11H, Ar), 5.19 (s, 1H, O-CH-O), 4.99 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-1), 3.99 (dq, $J = 12.3, 8.7$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{2a}\text{-CF}_3$), 3.90 (dq, $J = 12.3, 8.6$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{2b}\text{-CF}_3$), 3.73 (d, $J = 15.6$ Hz, 2H, CH₂-C=O), 3.69 (d, $J = 15.6$ Hz, 2H, CH₂-C=O), 3.62 (dd, $J = 10.4, 4.9$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.53 (ddd, $J = 11.0, 9.2, 5.1$ Hz, 1H, H-3), 3.44 (td, $J = 10.0, 5.0$ Hz, 1H, H-5), 3.31 (s, 3H, OCH₃), 3.10 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.01 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, H-4), 2.40 (ddd, $J = 13.6, 5.2, 1.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.61 (ddd, $J = 14.3, 11.1, 4.0$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.2 (2 C=O), 136.4 (2 C, Ar), 134.8

(2 C, Ar), 130.0 (CH, Ar), 129.5 (4 CH, Ar), 129.0 (4 CH, Ar), 127.4 (2 CH, Ar), 123.7 (q, $J = 278.3$ Hz, CH_2CF_3), 120.2 (2 CH, Ar), 116.7 (C, Ar), 100.7 (O-CH-O), 98.6 (CH-1), 82.7 (CH-4), 73.3 (CH-3), 68.9 (CH₂-6), 64.7 (q, $J = 34.9$ Hz, CH_2CF_3), 63.0 (CH-5), 57.6 (OCH₃), 45.2 (2 CH₂, 2 CH₂-C=O), 34.9 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₂H₃₇F₃N₃O₇ [M+NH₄]⁺: 632.25781, encontrada 632.26055. Para **31β**: **¹H RMN (500 MHz, CDCl₃)** δ 8.16 (s, 2H, 2 NH), 7.79 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, Ar), 7.42-7.28 (m, 11H, Ar), 5.12 (s, 1H, O-CH-O), 4.55 (dd, $J = 9.8, 2.2$ Hz, 1H, H-1), 4.12 (dq, $J = 12.6, 8.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-CF}_3$), 3.97 (dq, $J = 12.6, 8.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-CF}_3$), 3.73 (s, 4H, 2 CH₂-C=O), 3.70 (dd, $J = 10.4, 5.0$ Hz, 1H, H-6_{eq}), 3.29 (s, 3H, OCH₃), 3.13 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-6_{ax}), 3.10 (td, $J = 10.9, 9.0, 5.1$ Hz, 1H, H-3), 2.89 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-4), 2.46 (td, $J = 9.8, 4.9$ Hz, 1H, H-5), 2.40 (ddd, $J = 13.0, 5.1, 2.2$ Hz, 1H, H-2_{eq}), 1.47 (ddd, $J = 13.0, 11.2, 9.8$ Hz, 1H, H-2_{ax}); **¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃)** δ 169.1 (2 C=O), 136.3 (2 C, Ar), 134.9 (2 C, Ar), 130.1 (CH, Ar), 129.6 (4 CH, Ar), 129.2 (4 CH, Ar), 127.5 (2 CH, Ar), 123.6 (q, $J = 278.2$ Hz, CH_2CF_3), 120.5 (2 CH, Ar), 117.3 (C, Ar), 100.1 (O-CH-O), 99.7 (CH-1), 81.9 (CH-4), 75.7 (CH-3), 68.9 (CH₂-6), 65.8 (CH-5), 65.4 (q, $J = 35.5$ Hz, CH_2CF_3), 57.4 (OCH₃), 45.2 (2 CH₂-C=O), 36.0 (CH₂-2). **HRMS (ESI) m/z** calculada para C₃₂H₃₃F₃N₂NaO₇ [M+Na]⁺: 637.21321, encontrada 637.21516.

CAPÍTULO 6

Bibliografía

6.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Gabius, H.-J.; André, S.; Jiménez-Barbero, J.; Romero, A.; Solís, D., From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. *Trends in Biochemical Sciences* **2011**, 36 (6), 298-313.
2. Pang, P.-C.; Chiu, P. C. N.; Lee, C.-L.; Chang, L.-Y.; Panico, M.; Morris, H. R.; Haslam, S. M.; Khoo, K.-H.; Clark, G. F.; Yeung, W. S. B.; Dell, A., Human Sperm Binding Is Mediated by the Sialyl-Lewis Oligosaccharide on the Zona Pellucida. *Science* **2011**, 333 (6050), 1761-1764.
3. (a) Lee, Y. C.; Lee, R. T., Carbohydrate-Protein Interactions: Basis of Glycobiology. *Accounts of Chemical Research* **1995**, 28 (8), 321-327; (b) Dwek, R. A., Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars. *Chemical Reviews* **1996**, 96 (2), 683-720.
4. Seeberger, P. H.; Werz, D. B., Synthesis and medical applications of oligosaccharides. *Nature* **2007**, 446, 1046.
5. Dube, D. H.; Bertozzi, C. R., Glycans in cancer and inflammation — potential for therapeutics and diagnostics. *Nature Reviews Drug Discovery* **2005**, 4, 477.
6. (a) Walter, F.; Vicens, Q.; Westhof, E., Aminoglycoside–RNA interactions. *Current Opinion in Chemical Biology* **1999**, 3 (6), 694-704; (b) Nicolaou, K. C.; Mitchell, H. J., Adventures in Carbohydrate Chemistry: New Synthetic Technologies, Chemical Synthesis, Molecular Design, and Chemical Biology. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, 40 (9), 1576-1624.
7. Asensio, J. L.; Ardá, A.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J., Carbohydrate–Aromatic Interactions. *Accounts of Chemical Research* **2013**, 46 (4), 946-954.
8. (a) Lis, H.; Sharon, N., Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chemical Reviews* **1998**, 98 (2), 637-674; (b) Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Poveda, A., Free and protein-bound carbohydrate structures. *Current Opinion in Structural Biology* **1999**, 9 (5), 549-555.
9. Vicens, Q.; Westhof, E., Molecular recognition of aminoglycoside antibiotics by ribosomal RNA and resistance enzymes: An analysis of x-ray crystal structures. *Biopolymers* **2003**, 70 (1), 42-57.

10. Phillips, D. C., The hen egg-white lysozyme molecule. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1967**, 57 (3), 483-495.
11. Phillips, W. D.; Glickson, J. D.; Rupley, J. A., Proton magnetic resonance study of the indole NH resonances of lysozyme. Assignment, deuterium exchange kinetics, and inhibitor binding. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93 (16), 4031-4038.
12. Quijcho, F. A., Carbohydrate-binding proteins: tertiary structures and protein-sugar interactions. *Annual Review of Biochemistry* **1986**, 55 (1), 287-315.
13. (a) von der Lieth, C.-W.; Frank, M.; Lütke, T., Carbohydrate Structure Suite (CSS): analysis of carbohydrate 3D structures derived from the PDB. *Nucleic Acids Research* **2005**, 33 (suppl_1), D242-D246; (b) Cantarel, B. L.; Coutinho, P. M.; Rancurel, C.; Bernard, T.; Lombard, V.; Henrissat, B., The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic acids research* **2009**, 37 (Database issue), D233-D238.
14. (a) Bourne, Y.; Bolgiano, B.; Liao, D. I.; Strecker, G.; Cantau, P.; Herzberg, O.; Feizi, T.; Cambillau, C., Crosslinking of mammalian lectin (galectin-1) by complex biantennary saccharides. *Nature structural biology* **1994**, 1 (12), 863-70; (b) Bourne, Y.; Bolgiano, B.; Nésa, M.-P.; Penfold, P.; Johnson, D.; Feizi, T.; Cambillau, C., Crystallization and Preliminary X-ray Diffraction Studies of the Soluble 14 kDa β -Galactoside-binding Lectin from Bovine Heart. *Journal of Molecular Biology* **1994**, 235 (2), 787-789.
15. Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Siebert, H.-C.; Laynez, J.; Poveda, A.; Nieto, P. M.; Soedjanaamadja, U. M.; Gabius, H.-J.; Jiménez-Barbero, J., Structural basis for chitin recognition by defense proteins: GlcNAc residues are bound in a multivalent fashion by extended binding sites in hevein domains. *Chemistry & Biology* **2000**, 7 (7), 529-543.
16. Ramírez-Gualito, K.; Alonso-Ríos, R.; Quiroz-García, B.; Rojas-Aguilar, A.; Díaz, D.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G., Enthalpic Nature of the CH/ π Interaction Involved in the Recognition of Carbohydrates by Aromatic Compounds, Confirmed by a Novel Interplay of NMR, Calorimetry, and Theoretical Calculations. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131 (50), 18129-18138.

17. Arya, D. P., *Aminoglycoside antibiotics: from chemical biology to drug discovery*. John Wiley & Sons: 2007; Vol. 5.
18. (a) Carter, A. P.; Clemons, W. M.; Brodersen, D. E.; Morgan-Warren, R. J.; Wimberly, B. T.; Ramakrishnan, V., Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics. *Nature* **2000**, *407* (6802), 340-348; (b) Vicens, Q.; Westhof, E., Crystal Structure of a Complex between the Aminoglycoside Tobramycin and an Oligonucleotide Containing the Ribosomal Decoding A Site. *Chemistry & Biology* **2002**, *9* (6), 747-755; (c) Vicens, Q.; Westhof, E., RNA as a Drug Target: The Case of Aminoglycosides. *ChemBioChem* **2003**, *4* (10), 1018-1023; (d) François, B.; Russell, R. J. M.; Murray, J. B.; Aboul-ela, F.; Masquida, B.; Vicens, Q.; Westhof, E., Crystal structures of complexes between aminoglycosides and decoding A site oligonucleotides: role of the number of rings and positive charges in the specific binding leading to miscoding. *Nucleic acids research* **2005**, *33* (17), 5677-5690.
19. (a) Schroeder, R.; Waldsich, C.; Wank, H., Modulation of RNA function by aminoglycoside antibiotics. *The EMBO Journal* **2000**, *19* (1), 1-9; (b) Suchek, S. J.; Wong, C.-H., RNA as a target for small molecules. *Current Opinion in Chemical Biology* **2000**, *4* (6), 678-686.
20. Vacas, T.; Corzana, F.; Jiménez-Osés, G.; González, C.; Gómez, A. M.; Bastida, A.; Revuelta, J.; Asensio, J. L., Role of Aromatic Rings in the Molecular Recognition of Aminoglycoside Antibiotics: Implications for Drug Design. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (34), 12074-12090.
21. Davis, A. P.; Wareham, R. S., Carbohydrate Recognition through Noncovalent Interactions: A Challenge for Biomimetic and Supramolecular Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, *38* (20), 2978-2996.
22. Aoyama, Y.; Tanaka, Y.; Toi, H.; Ogoshi, H., Polar host-guest interaction. Binding of nonionic polar compounds with a resorcinol-aldehyde cyclooligomer as a lipophilic polar host. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110* (2), 634-635.
23. Bhattarai, K. M.; Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P.; Murray, B. A., Diastereo- and enantio-selective binding of octyl glucosides by an artificial receptor. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1992**, (10), 752-754.

24. (a) Mizutani, T.; Murakami, T.; Matsumi, N.; Kurahashi, T.; Ogoshi, H., Molecular recognition of carbohydrates by functionalized zinc porphyrins. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1995**, (12), 1257-1258; (b) Mizutani, T.; Kurahashi, T.; Murakami, T.; Matsumi, N.; Ogoshi, H., Molecular Recognition of Carbohydrates by Zinc Porphyrins: Lewis Acid/Lewis Base Combinations as a Dominant Factor for Their Selectivity. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119 (38), 8991-9001.
25. Inouye, M.; Miyake, T.; Furusyo, M.; Nakazumi, H., Molecular Recognition of .beta.-Ribofuranosides by Synthetic Polypyridine-Macrocyclic Receptors. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117 (50), 12416-12425.
26. Das, G.; Hamilton, A. D., Molecular Recognition of Carbohydrates: Strong Binding of Alkyl Glycosides by Phosphonate Derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116 (24), 11139-11140.
27. Yang, L.; Adam, C.; Nichol, G. S.; Cockroft, S. L., How much do van der Waals dispersion forces contribute to molecular recognition in solution? *Nature Chemistry* **2013**, 5, 1006-10010.
28. Jiménez-Barbero, J.; Javier Cañada, F.; Asensio, J. L.; Aboitiz, N.; Vidal, P.; Canales, A.; Groves, P.; Gabius, H.-J.; Siebert, H.-C., Hevein Domains: An Attractive Model to Study Carbohydrate-Protein Interactions at Atomic Resolution. In *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, Horton, D., Ed. Academic Press: 2006; Vol. 60, pp 303-354.
29. Hudson, K. L.; Bartlett, G. J.; Diehl, R. C.; Agirre, J.; Gallagher, T.; Kiessling, L. L.; Woolfson, D. N., Carbohydrate-Aromatic Interactions in Proteins. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, 137 (48), 15152-15160.
30. Plevin, M. J.; Bryce, D. L.; Boissbouvier, J., Direct detection of CH/ π interactions in proteins. *Nature Chemistry* **2010**, 2, 466-471.
31. Santana, A. G.; Jiménez-Moreno, E.; Gómez, A. M.; Corzana, F.; González, C.; Jiménez-Oses, G.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L., A Dynamic Combinatorial Approach for the Analysis of Weak Carbohydrate/Aromatic Complexes: Dissecting Facial Selectivity in CH/ π Stacking Interactions. *Journal of the American Chemical Society* **2013**, 135 (9), 3347-3350.

32. Jiménez-Moreno, E.; Jiménez-Osés, G.; Gómez, A. M.; Santana, A. G.; Corzana, F.; Bastida, A.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L., A thorough experimental study of CH/ π interactions in water: quantitative structure–stability relationships for carbohydrate/aromatic complexes. *Chemical Science* **2015**, 6 (11), 6076-6085.
33. Jiménez-Moreno, E.; Gómez, A. M.; Bastida, A.; Corzana, F.; Jiménez-Oses, G.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L., Modulating Weak Interactions for Molecular Recognition: A Dynamic Combinatorial Analysis for Assessing the Contribution of Electrostatics to the Stability of CH– π Bonds in Water. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, 54 (14), 4344-4348.
34. Ma, J. C.; Dougherty, D. A., The Cation– π Interaction. *Chemical Reviews* **1997**, 97 (5), 1303-1324.
35. Nerinckx, W.; Desmet, T.; Claeysens, M., A hydrophobic platform as a mechanistically relevant transition state stabilising factor appears to be present in the active centre of all glycoside hydrolases. *FEBS Letters* **2003**, 538 (1-3), 1-7.
36. Iglesias-Fernández, J.; Hancock, S. M.; Lee, S. S.; Khan, M.; Kirkpatrick, J.; Oldham, N. J.; McAuley, K.; Fordham-Skelton, A.; Rovira, C.; Davis, B. G., A front-face 'S_Ni synthase' engineered from a retaining 'double-SN2' hydrolase. *Nature Chemical Biology* **2017**, 13, 874-881.
37. Phan, T. B.; Nolte, C.; Kobayashi, S.; Ofial, A. R.; Mayr, H., Can One Predict Changes from S_N1 to S_N2 Mechanisms? *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131 (32), 11392-11401.
38. Mydock, L. K.; Demchenko, A. V., Mechanism of chemical O-glycosylation: from early studies to recent discoveries. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2010**, 8 (3), 497-510.
39. Danby, P. M.; Withers, S. G., Glycosyl Cations versus Allylic Cations in Spontaneous and Enzymatic Hydrolysis. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, 139 (31), 10629-10632.
40. (a) Meerwein, H.; Hinz, G.; Hofmann, P.; Kroning, E.; Pfeil, E., Über Tertiäre Oxoniumsalze, I. *Journal für Praktische Chemie* **1937**, 147 (10-12), 257-285; (b) Meerwein, H.; Hederich, V.; Wunderlich, K., Untersuchungen mit wasserfreiem Silberfluoroborat und Kupfer(I)-fluoroborat. *Archiv der Pharmazie* **1958**, 291 (11), 541-554.

41. (a) Rakhmankulov, D. L.; Akhmatdinov, R. T.; Kantor, E. A., Alkoxy-carbenium Ions. *Russian Chemical Reviews* **1984**, 53 (9), 888; (b) Bohé, L.; Crich, D., A propos of glycosyl cations and the mechanism of chemical glycosylation; the current state of the art. *Carbohydrate Research* **2015**, 403, 48-59.
42. Saito, K.; Ueoka, K.; Matsumoto, K.; Suga, S.; Nokami, T.; Yoshida, J.-i., Indirect Cation-Flow Method: Flash Generation of Alkoxy-carbenium Ions and Studies on the Stability of Glycosyl Cations. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, 50 (22), 5153-5156.
43. Adero, P. O.; Amarasekara, H.; Wen, P.; Bohé, L.; Crich, D., The Experimental Evidence in Support of Glycosylation Mechanisms at the SN1-SN2 Interface. *Chemical Reviews* **2018**, 118 (17), 8242-8284.
44. Martin, A.; Arda, A.; Désiré, J.; Martin-Mingot, A.; Probst, N.; Sinaÿ, P.; Jiménez-Barbero, J.; Thibaudeau, S.; Blériot, Y., Catching elusive glycosyl cations in a condensed phase with HF/SbF₅ superacid. *Nature Chemistry* **2016**, 8, 186-191.
45. Fang, T.; Gu, Y.; Huang, W.; Boons, G.-J., Mechanism of Glycosylation of Anomeric Sulfonium Ions. *Journal of the American Chemical Society* **2016**, 138 (9), 3002-3011.
46. West, A. C.; Schuerch, C., Reverse anomeric effect and the synthesis of a-glycosides. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95 (4), 1333-1335.
47. Fascione, M. A.; Kilner, C. A.; Leach, A. G.; Turnbull, W. B., Do Glycosyl Sulfonium Ions Engage in Neighbouring-Group Participation? A Study of Oxathiane Glycosyl Donors and the Basis for their Stereoselectivity. *Chemistry – A European Journal* **2012**, 18 (1), 321-333.
48. Denekamp, C.; Sandler, Y., Anomeric distinction and oxonium ion formation in acetylated glycosides. *Journal of Mass Spectrometry* **2005**, 40 (6), 765-771.
49. Elferink, H.; Severijnen, M. E.; Martens, J.; Mensink, R. A.; Berden, G.; Oomens, J.; Rutjes, F. P. J. T.; Rijs, A. M.; Boltje, T. J., Direct Experimental Characterization of Glycosyl Cations by Infrared Ion Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society* **2018**, 140 (19), 6034-6038.

50. Rhind-Tutt, A. J.; Vernon, C. A., Nucleophilic substitution in 2,3,4,6-tetra-O-methylglycopyranosyl chlorides. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1960**, (0), 4637-4644.
51. Lemieux, R. U.; Hayami, J.-I., THE MECHANISM OF THE ANOMERIZATION OF THE TETRA-O-ACETYL-D-GLUCOPYRANOSYL CHLORIDES. *Canadian Journal of Chemistry* **1965**, 43 (8), 2162-2173.
52. Paulsen, H.; Richter, A.; Sinnwell, V.; Stenzel, W., Darstellung selektiv blockierter 2-azido-2-desoxy-D-gluco- und -D-galactopyranosylhalogenide: reaktivität und ¹³C-NMR-spektren. *Carbohydrate Research* **1978**, 64, 339-362.
53. Schroeder, L. R.; Green, J. W.; Johnson, D. C., Alcoholyses of 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromide; kinetics and products at 25–40°. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic* **1966**, (0), 447-453.
54. Eby, R.; Schuerch, C., *The use of 1-O-tosyl-d-glucopyranose derivatives in ??-d-glucoside synthesis*. 1974; Vol. 34, p 79–90.
55. Crich, D.; Sun, S., Are Glycosyl Triflates Intermediates in the Sulfoxide Glycosylation Method? A Chemical and ¹H, ¹³C, and ¹⁹F NMR Spectroscopic Investigation. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119 (46), 11217-11223.
56. Huang, M.; Retailleau, P.; Bohé, L.; Crich, D., Cation Clock Permits Distinction Between the Mechanisms of α - and β -O- and β -C-Glycosylation in the Mannopyranose Series: Evidence for the Existence of a Mannopyranosyl Oxocarbenium Ion. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 134 (36), 14746-14749.
57. Adero, P. O.; Furukawa, T.; Huang, M.; Mukherjee, D.; Retailleau, P.; Bohé, L.; Crich, D., Cation Clock Reactions for the Determination of Relative Reaction Kinetics in Glycosylation Reactions: Applications to Gluco- and Mannopyranosyl Sulfoxide and Trichloroacetimidate Type Donors. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, 137 (32), 10336-10345.
58. Bennet, A. J.; Sinnott, M. L., Complete kinetic isotope effect description of transition states for acid-catalyzed hydrolyses of methyl .alpha.- and .beta.-glucopyranosides. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, 108 (23), 7287-7294.

59. Chan, J.; Sannikova, N.; Tang, A.; Bennet, A. J., Transition-State Structure for the Quintessential S_N2 Reaction of a Carbohydrate: Reaction of α -Glucopyranosyl Fluoride with Azide Ion in Water. *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136* (35), 12225-12228.
60. Chan, J.; Tang, A.; Bennet, A. J., A Stepwise Solvent-Promoted S_Ni Reaction of α -d-Glucopyranosyl Fluoride: Mechanistic Implications for Retaining Glycosyltransferases. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134* (2), 1212-1220.
61. Amyes, T. L.; Jencks, W. P., Lifetimes of oxocarbenium ions in aqueous solution from common ion inhibition of the solvolysis of .alpha.-azido ethers by added azide ion. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, *111* (20), 7888-7900.
62. Huang, X.; Surry, C.; Hiebert, T.; Bennet, A. J., Hydrolysis of (2-Deoxy-.beta.-D-glucopyranosyl)pyridinium Salts. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117* (43), 10614-10621.
63. Horenstein, B. A.; Bruner, M., The N-Acetyl Neuraminyl Oxocarbenium Ion Is an Intermediate in the Presence of Anionic Nucleophiles. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120* (7), 1357-1362.
64. Namchuk, M. N.; McCarter, J. D.; Becalski, A.; Andrews, T.; Withers, S. G., The Role of Sugar Substituents in Glycoside Hydrolysis. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122* (7), 1270-1277.
65. (a) Moumé-Pymbock, M.; Furukawa, T.; Mondal, S.; Crich, D., Probing the Influence of a 4,6-O-Acetal on the Reactivity of Galactopyranosyl Donors: Verification of the Disarming Influence of the trans-gauche Conformation of C5-C6 Bonds. *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135* (38), 14249-14255; (b) Jensen, H. H.; Nordstrøm, L. U.; Bols, M., The Disarming Effect of the 4,6-Acetal Group on Glycoside Reactivity: Torsional or Electronic? *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (30), 9205-9213; (c) Bock, K.; Duus, J. Ø., A Conformational Study of Hydroxymethyl Groups in Carbohydrates Investigated by ¹H NMR Spectroscopy. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1994**, *13* (4), 513-543.
66. (a) Hsu, C.-H.; Hung, S.-C.; Wu, C.-Y.; Wong, C.-H., Toward Automated Oligosaccharide Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*

- (50), 11872-11923; (b) Zhang, Z.; Ollmann, I. R.; Ye, X.-S.; Wischnat, R.; Baasov, T.; Wong, C.-H., Programmable One-Pot Oligosaccharide Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121* (4), 734-753.
67. (a) Li, X.; Huang, L.; Hu, X.; Huang, X., Thio-aryl glycosides with various aglycon para-substituents: a probe for studying chemical glycosylation reactions. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009**, *7* (1), 117-127; (b) Lahmann, M.; Oscarson, S., Investigation of the reactivity difference between thioglycoside donors with variant aglycon parts. *Canadian Journal of Chemistry* **2002**, *80* (8), 889-893; (c) Gómez, A. M., A Survey of Ley's Reactivity Tuning in Oligosaccharide Synthesis. *Top. Curr. Chem.: Top. Curr. Chem.*, 2011; pp 31-68; (d) L. Douglas, N.; V. Ley, S.; Lücking, U.; L. Warriner, S., Tuning glycoside reactivity: New tool for efficient oligosaccharide synthesis. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1998**, (1), 51-66.
68. Jensen, H. H.; Bols, M., Stereoelectronic Substituent Effects. *Accounts of Chemical Research* **2006**, *39* (4), 259-265.
69. Crich, D.; Dudkin, V., Efficient, Diastereoselective Chemical Synthesis of a β -Mannopyranosyl Phosphoisoprenoid. *Organic Letters* **2000**, *2* (24), 3941-3943.
70. Nigudkar, S. S.; Demchenko, A. V., Stereocontrolled 1,2-cis glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. *Chemical Science* **2015**, *6* (5), 2687-2704.
71. Eby, R.; Schuerch, C., The use of 1-O-tosyl-D-glucopyranose derivatives in α -D-glucoside synthesis. *Carbohydrate Research* **1974**, *34* (1), 79-90.
72. Ishiwata, A.; Munemura, Y.; Ito, Y., Synergistic solvent effect in 1,2-cis-glycoside formation. *Tetrahedron* **2008**, *64* (1), 92-102.
73. Chatterjee, S.; Moon, S.; Hentschel, F.; Gilmore, K.; Seeberger, P. H., An Empirical Understanding of the Glycosylation Reaction. *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140* (38), 11942-11953.
74. van der Vorm, S.; Hansen, T.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C., The influence of acceptor nucleophilicity on the glycosylation reaction mechanism. *Chemical Science* **2017**, *8* (3), 1867-1875.

75. Hagen, B.; van Dijk, J. H. M.; Zhang, Q.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C., Synthesis of the *Staphylococcus aureus* Strain M Capsular Polysaccharide Repeating Unit. *Organic Letters* **2017**, *19* (10), 2514-2517.
76. Hagen, B.; Ali, S.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C., Mapping the Reactivity and Selectivity of 2-Azidofucosyl Donors for the Assembly of N-Acetylfucosamine-Containing Bacterial Oligosaccharides. *The Journal of Organic Chemistry* **2017**, *82* (2), 848-868.
77. Satoh, H.; Hansen, H. S.; Manabe, S.; van Gunsteren, W. F.; Hünenberger, P. H., Theoretical Investigation of Solvent Effects on Glycosylation Reactions: Stereoselectivity Controlled by Preferential Conformations of the Intermediate Oxacarbenium-Counterion Complex. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2010**, *6* (6), 1783-1797.
78. van Rijssel, E. R.; van Delft, P.; Lodder, G.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V.; Codée, J. D. C., Furanosyl Oxocarbenium Ion Stability and Stereoselectivity. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (39), 10381-10385.
79. Whitfield, D. M., Chapter 4 Computational Studies of the Role of Glycopyranosyl Oxacarbenium Ions in Glycobiology and Glycochemistry. In *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, Academic Press: 2009; Vol. 62, pp 83-159.
80. Huang, M.; Garrett, G. E.; Birlirakis, N.; Bohé, L.; Pratt, D. A.; Crich, D., Dissecting the mechanisms of a class of chemical glycosylation using primary ¹³C kinetic isotope effects. *Nature Chemistry* **2012**, *4*, 663-667.
81. Kwan, E. E.; Park, Y.; Besser, H. A.; Anderson, T. L.; Jacobsen, E. N., Sensitive and Accurate ¹³C Kinetic Isotope Effect Measurements Enabled by Polarization Transfer. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139* (1), 43-46.
82. Park, Y.; Harper, K. C.; Kuhl, N.; Kwan, E. E.; Liu, R. Y.; Jacobsen, E. N., Macrocyclic bis-thioureas catalyze stereospecific glycosylation reactions. *Science* **2017**, *355* (6321), 162-166.
83. Hosoya, T.; Takano, T.; Kosma, P.; Rosenau, T., Theoretical Foundation for the Presence of Oxacarbenium Ions in Chemical Glycoside Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry* **2014**, *79* (17), 7889-7894.

84. Hosoya, T.; Kosma, P.; Rosenau, T., Contact ion pairs and solvent-separated ion pairs from d-mannopyranosyl and d-glucopyranosyl triflates. *Carbohydrate Research* **2015**, *401*, 127-131.
85. Zechel, D. L.; Withers, S. G., Glycosidase Mechanisms: Anatomy of a Finely Tuned Catalyst. *Accounts of Chemical Research* **2000**, *33* (1), 11-18.
86. Sinnott, M. L., Catalytic mechanism of enzymic glycosyl transfer. *Chemical Reviews* **1990**, *90* (7), 1171-1202.
87. Davies, G. S., M.L.; Withers, S. G., GLYCOSYL TRANSFER. *Comprehensive Biological Catalysis: Reactions of electrophilic carbon, phosphorus and sulfur* **1998**, 119-208.
88. Lillelund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X.; Bols, M., Recent Developments of Transition-State Analogue Glycosidase Inhibitors of Non-Natural Product Origin. *Chemical Reviews* **2002**, *102* (2), 515-554.
89. Hunter, C. A.; Low, C. M. R.; Vinter, J. G.; Zonta, C., Quantification of Functional Group Interactions in Transition States. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (33), 9936-9937.
90. (a) Noyori, R.; Hashiguchi, S., Asymmetric Transfer Hydrogenation Catalyzed by Chiral Ruthenium Complexes. *Accounts of Chemical Research* **1997**, *30* (2), 97-102; (b) Yamakawa, M.; Yamada, I.; Noyori, R., CH/ π Attraction: The Origin of Enantioselectivity in Transfer Hydrogenation of Aromatic Carbonyl Compounds Catalyzed by Chiral η^6 -Arene-Ruthenium(II) Complexes. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (15), 2818-2821.
91. (a) Wendt, K. U.; Poralla, K.; Schulz, G. E., Structure and Function of a Squalene Cyclase. *Science* **1997**, *277* (5333), 1811-1815; (b) Morikubo, N.; Fukuda, Y.; Ohtake, K.; Shinya, N.; Kiga, D.; Sakamoto, K.; Asanuma, M.; Hirota, H.; Yokoyama, S.; Hoshino, T., Cation- π Interaction in the Polyolefin Cyclization Cascade Uncovered by Incorporating Unnatural Amino Acids into the Catalytic Sites of Squalene Cyclase. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (40), 13184-13194.
92. Zhang, X.; Hao, X.; Liu, L.; Pham, A.-T.; López-Andarias, J.; Frontera, A.; Sakai, N.; Matile, S., Primary Anion- π Catalysis and Autocatalysis. *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140* (51), 17867-17871.

93. (a) Ayala, L.; Lucero, C. G.; Romero, J. A. C.; Tabacco, S. A.; Woerpel, K. A., Stereochemistry of Nucleophilic Substitution Reactions Depending upon Substituent: Evidence for Electrostatic Stabilization of Pseudoaxial Conformers of Oxocarbenium Ions by Heteroatom Substituents. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (50), 15521-15528; (b) Smith, D. M.; Woerpel, K. A., Electrostatic interactions in cations and their importance in biology and chemistry. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2006**, *4* (7), 1195-1201; (c) Beaver, M. G.; Buscagan, T. M.; Lavinda, O.; Woerpel, K. A., Stereoelectronic Model To Explain Highly Stereoselective Reactions of Seven-Membered-Ring Oxocarbenium-Ion Intermediates. *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55* (5), 1816-1819.
94. (a) Huang, M.; Garrett, G. E.; Birlirakis, N.; Bohé, L.; Pratt, D. A.; Crich, D., Dissecting the mechanisms of a class of chemical glycosylation using primary ^{13}C kinetic isotope effects. *Nature Chemistry* **2012**, *4* (8), 663-667; (b) Crich, D., Mechanism of a Chemical Glycosylation Reaction. *Accounts of Chemical Research* **2010**, *43* (8), 1144-1153; (c) Crich, D.; Chandrasekera, N. S., Mechanism of 4,6-O-Benzylidene-Directed β -Mannosylation as Determined by α -Deuterium Kinetic Isotope Effects. *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43* (40), 5386-5389.
95. Van der Vorm, S.; Van Hengst, J. M. A.; Bakker, M.; Overkleeft, H. S.; Vander Marel, G. A.; Codée, J. D. C., Mapping the Relationship between Glycosyl Acceptor Reactivity and Glycosylation Stereoselectivity. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (27), 8240-8244.
96. Ren, B.; Wang, M.; Liu, J.; Ge, J.; Zhang, X.; Dong, H., Zemplén transesterification: a name reaction that has misled us for 90 years. *Green Chemistry* **2015**, *17* (3), 1390-1394.
97. Garegg, P. J., Thioglycosides as Glycosyl Donors in Oligosaccharide Synthesis. In *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, Horton, D., Ed. Academic Press: 1997; Vol. 52, pp 179-205.
98. Schmidt, R. R.; Michel, J., Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1980**, *19* (9), 731-732.

99. Jayaprakash, K. N.; Lu, J.; Fraser-Reid, B., Synthesis of a Lipomannan Component of the Cell-Wall Complex of *Mycobacterium tuberculosis* Is Based on Paulsen's Concept of Donor/Acceptor "Match". *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (36), 5894-5898.
100. Kong, F., Recent studies on reaction pathways and applications of sugar orthoesters in synthesis of oligosaccharides. *Carbohydrate Research* **2007**, *342* (3), 345-373.
101. Thadke, S. A.; Hotha, S., Efficient synthesis of oligosaccharyl 1,2-O-orthoesters from n-pentenyl glycosides and application to the pentaarabinofuranoside of the mycobacterial cell surface. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2014**, *12* (48), 9914-9920.
102. Wei, S.; Zhao, J.; Shao, H., A facile method for the preparation of sugar orthoesters promoted by anhydrous sodium bicarbonate. *Canadian Journal of Chemistry* **2009**, *87* (12), 1733-1737.
103. Das, S. K.; Mallet, J.-M.; Esnault, J.; Driguez, P.-A.; Duchaussoy, P.; Sizun, P.; Herault, J.-P.; Herbert, J.-M.; Petitou, M.; Sinaÿ, P., Synthesis of Conformationally Locked l-Iduronic Acid Derivatives: Direct Evidence for a Critical Role of the Skew-Boat 2S0 Conformer in the Activation of Antithrombin by Heparin. *Chemistry – A European Journal* **2001**, *7* (22), 4821-4834.
104. Kramer, S.; Nolting, B.; Ott, A.-J.; Vogel, C., Synthesis of Homogalacturonan Fragments. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **2000**, *19* (7), 891-921.
105. Konradsson, P.; Fraser-Reid, B., Conversion of pent-4-enyl glycosides into glycosyl bromides. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1989**, (16), 1124-1125.
106. Gremaud, L.; Alexakis, A., Enantioselective Copper-Catalyzed Conjugate Addition of Trimethylaluminum to β,γ -Unsaturated α -Ketoesters. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51* (3), 794-797.
107. Malik, L.; Kelly, N. M.; Ma, J.-N.; Currier, E. A.; Burstein, E. S.; Olsson, R., Discovery of non-peptidergic MrgX1 and MrgX2 receptor agonists and exploration of an initial SAR using solid-phase synthesis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19* (6), 1729-1732.

108. Nagarapua, L.; Gaikwad, H. K.; Manikonda, S. R.; Bantu, R.; Manda, K. M.; Kalivendi, S. V., Synthesis of novel building blocks of 1H-pyrrolo[3,4-b]quinolin-3(2H)-one and evaluation of their antitumor activity. *Medicinal Chemistry Research* **2013**, 22 (1), 165-174.
109. Zhao, H.; Xing, Y.; Lu, P.; Wang, Y., Synthesis of 2,3-Disubstituted Quinolines via Ketenimine or Carbodiimide Intermediates. *Chemistry - A European Journal* **2016**, 22 (42), 15144-15150.
110. Feldman, K. S.; Gonzalez, I. Y.; Glinkerman, C. M., Indolidenes and Indolidenium Intermediates in the Synthesis of Cyclopent[b]indoles: Mechanistic Studies on Intramolecular Cyclizations. *The Journal of Organic Chemistry* **2015**, 80 (23), 11849-11862.
111. Alajarín, M.; Bonillo, B.; Orenes, R.-A.; Ortín, M.-M.; Vidal, A., 1,5-(H, RO, RS) shift/ 6π -electrocyclic ring closure tandem processes on N-[(α -heterosubstituted)-2-tolyl]ketenimines: a case study of relative migratory aptitudes and activating effects. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2012**, 10 (48), 9523-9537.
112. Luo, Q.-L.; Lv, L.; Li, Y.; Tan, J.-P.; Nan, W.; Hui, Q., An Efficient Protocol for the Amidation of Carboxylic Acids Promoted by Trimethyl Phosphite and Iodine. *European Journal of Organic Chemistry* **2011**, 2011 (34), 6916-6922.
113. Carpino, L. A.; Imazumi, H.; Foxman, B. M.; Vela, M. J.; Henklein, P.; El-Faham, A.; Klose, J.; Bienert, M., Comparison of the Effects of 5- and 6-HOAt on Model Peptide Coupling Reactions Relative to the Cases for the 4- and 7-Isomers. *Organic Letters* **2000**, 2 (15), 2253-2256.
114. Hideyuki, S.; Risa, W., Total Synthesis of Cytosaminomycin C. *Chemistry Letters* **2008**, 37 (10), 1038-1039.
115. Trost, B. M.; Osipov, M.; Krüger, S.; Zhang, Y., A catalytic asymmetric total synthesis of (-)-perophoramidine. *Chemical Science* **2015**, 6 (1), 349-353.
116. Hou, D.; Taha, H. A.; Lowary, T. L., 2,3-Anhydrosugars in Glycoside Bond Synthesis: Mechanism of 2-Deoxy-2-thioaryl Glycoside Formation. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131 (36), 12937-12948.
117. Bols, M., 1-Aza sugars, apparent transition state analogues of equatorial glycoside formation/cleavage. *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 1.

118. Pogosyan, A.; Gottwald, A.; Michalik, D.; Endress, H.-U.; Vogel, C., Efficient synthesis of building blocks for branched rhamnogalacturonan I fragments. *Carbohydrate Research* **2013**, *380*, 9-15.
119. Uriel, C.; Rijo, P.; Fernandes, A. S.; Gómez, A. M.; Fraser-Reid, B.; López, J. C., Methyl 1,2-Orthoesters in Acid-Washed Molecular Sieves Mediated Glycosylations. *ChemistrySelect* **2016**, *1* (18), 6011-6015.
120. Vidadala, S. R.; Thadke, S. A.; Hotha, S., Orthogonal Activation of Propargyl and n-Pentenyl Glycosides and 1,2-Orthoesters. *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74* (23), 9233-9236.
121. Mach, M.; Schlüter, U.; Mathew, F.; Fraser-Reid, B.; Hazen, K., *Comparing n-pentenyl orthoesters and n-pentenyl glycosides as alternative glycosyl donors*. 2002; Vol. 58, p 7345-7354.
122. Madsen, R.; Fraser-Reid, B., Acetal Transfer via Halonium-Ion Induced Reactions of Dipent-4-enyl Acetals: Scope and Mechanism. *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60* (3), 772-779.
123. Matwiejuk, M.; Thiem, J., Defining oxyanion reactivities in base-promoted glycosylations. *Chemical Communications* **2011**, *47* (29), 8379-8381.
124. Pedretti, V.; Veyrières, A.; Sinaÿ, P., A novel 13 O→C silyl rearrangement in carbohydrate chemistry: Synthesis of α -D-glycopyranosyltrimethylsilanes. *Tetrahedron* **1990**, *46* (1), 77-88.

CAPÍTULO 7

Anexo

Impact of Aromatic Stacking on Glycoside Reactivity: Balancing CH/ π and Cation/ π Interactions for the Stabilization of Glycosyl-Oxocarbenium Ions

Laura Montalvillo-Jiménez,^{†,‡} Andrés G. Santana,^{†,‡} Francisco Corzana,^{‡,§} Gonzalo Jiménez-Osés,^{§,||} Jesús Jiménez-Barbero,^{§,||} Ana M. Gómez,^{†,||} and Juan Luis Asensio^{*,†,||}

[†]Instituto de Química Orgánica (IQOG-CSIC), Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain

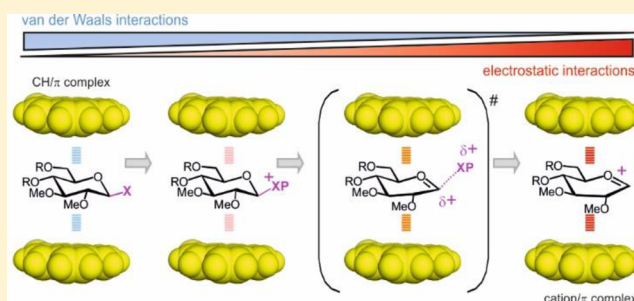
[‡]Departamento Química and Centro de Investigación en Síntesis Química, Universidad de La Rioja, 26006 Logroño, Spain

[§]Center for Cooperative Research in Biosciences (CIC-bioGUNE), 48160 Derio, Spain

^{||}Basque Foundation for Science, Ikerbasque, 48013 Bilbo, Spain

S Supporting Information

ABSTRACT: Carbohydrate/aromatic stacking represents a recurring key motif for the molecular recognition of glycosides, either by protein binding domains, enzymes, or synthetic receptors. Interestingly, it has been proposed that aromatic residues might also assist in the formation/cleavage of glycosidic bonds by stabilizing positively charged oxocarbenium-like intermediates/transition states through cation/ π interactions. While the significance of aromatic stacking on glycoside recognition is well established, its impact on the reactivity of glycosyl donors is yet to be explored. Herein, we report the first experimental study on this relevant topic. Our strategy is based on the design, synthesis, and reactivity evaluation of a large number of model systems, comprising a wide range of glycosidic donor/aromatic complexes. Different stacking geometries and dynamic features, anomeric leaving groups, sugar configurations, and reaction conditions have been explicitly considered. The obtained results underline the opposing influence exerted by van der Waals and Coulombic forces on the reactivity of the carbohydrate/aromatic complex: depending on the outcome of this balance, aromatic platforms can indeed exert a variety of effects, stretching from reaction inhibition all the way to rate enhancements. Although aromatic/glycosyl cation contacts are highly dynamic, the conclusions of our study suggest that aromatic assistance to glycosylation processes must indeed be feasible, with far reaching implications for enzyme engineering and organocatalysis.



INTRODUCTION

Aromatic stacking plays a prominent role in the molecular recognition of saccharidic ligands by proteins, nucleic acids, or synthetic receptors.^{1–3} These contacts result from a combination of dispersive, hydrophobic, and electrostatic forces, involving polarized pyranose CH groups and the aromatic electronic quadrupole,^{4,5} and can exhibit a variety of geometries. Their relevance is highlighted by data-mining studies which show the extraordinary high frequency of aromatic amino acids, especially tryptophan, in the carbohydrate binding sites of proteins. Of note, tryptophan, tyrosine, and phenylalanine residues are also common within the catalytic sites of glycosidases and glycosyl transferases, prompting the question of whether they might also assist the cleavage or formation of glycosidic bonds (Figure 1).

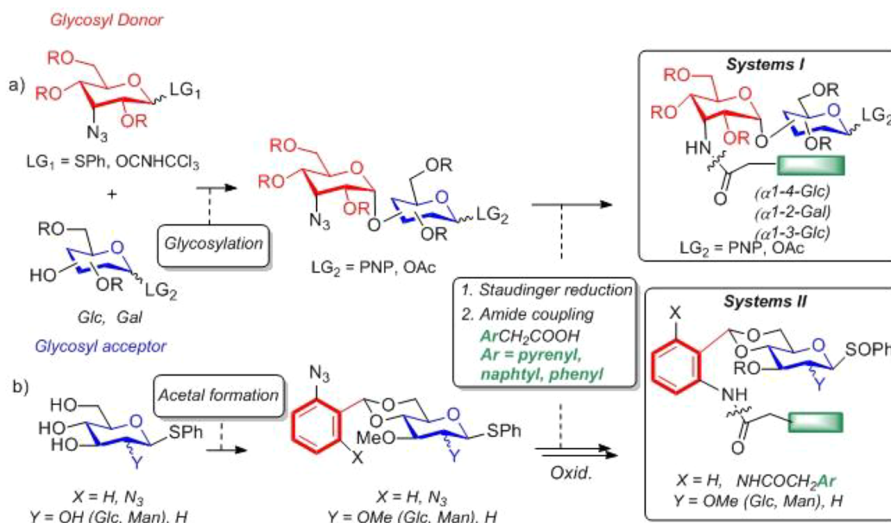
Different scenarios can be envisaged to describe the influence of aromatic stacking on the reactivity of pyranoses. Thus, for concerted S_N2 processes, shielding of the anomeric center by the aromatic platform would be expected to exert a

protective influence, potentially leading to a sharp decrease in reactivity. On the contrary, more dissociative transition states might benefit from favorable electrostatic forces arising between the aromatic quadrupole and the pyranose developing positive charge (cation/ π interaction),^{6,7} especially in low dielectric environments (Figure 1). In addition, aromatic/glycosyl cation interactions could be expected to drive the stereochemical course of the reaction by preventing the nucleophilic attack through either the α or β pyranose face. Fittingly, oxocarbenium-like intermediates or transition states have commonly been invoked to explain the outcome of glycosylation and glycoside hydrolytic reactions both in the chemical^{8–12} and enzymatic contexts.^{13–15} As a further consideration, the formation of glycosyl cations is usually accompanied by substantial conformational changes of the reactive pyranose ring.⁸ Conceivably, this geometric adjust-

Received: March 26, 2019

Published: August 7, 2019

Scheme 1. General Synthetic Route for the Model Systems I and II



both in substrate recognition and catalysis. These examples illustrate that under appropriate conditions, aromatic platforms can be employed to stabilize glycoside transition states. However, the precise structural and chemical requirements for this function are presently unknown.

Our aim is to understand the influence of carbohydrate/aromatic stacking on the pyranose reactivity to eventually apply this knowledge for synthesis and catalysis. With this purpose in mind, and as a first step, we have herein employed a chemical approach based on the design, synthesis, and evaluation of appropriate molecular systems, in conjunction with the extensive use of NMR as a key monitorization and detection tool, facilitated in particular cases by the employment of ^{13}C -labeled models. Despite its significance, both from the fundamental and applied perspectives, this work represents, to the best of our knowledge, the first systematic experimental study reported on this topic.

RESULTS

Design of the Model Glycosidic-Donor/Aromatic Complexes: Basic Principles. In order to enhance any potential stabilizing electrostatic interaction between the aromatic quadrupole and the cationic intermediates/transition states, we decided to carry out our studies in a low dielectric environment such as chloroform ($\epsilon = 4.8$).¹⁸ It is worth mentioning that comparable dielectric constants have been previously theorized to properly model the inner protein environment in binding sites or catalytic regions.¹⁹ Accordingly, the designed scaffolds encompass pyranose units equipped with several nonparticipating MeO-groups, which in turn provide high solubility in organic solvents.

Two alternative families of model systems were conceived. Compounds in family I contain a disaccharide scaffold (Figure 2a). The reactive pyranoses display alternative leaving groups at the anomeric center and participate in contacts with a pyrene platform that is attached to a vicinal 3-amino-allose unit through an amide bond (compounds 1–3, 6, and 8). Alternatively, the compounds in family II (Figure 2b) include a glycosyl donor involved in a stacking complex with a pyrene unit that is tethered to a 4,6-O-benzylidene protecting group. Considering the key influence exerted by the chemical nature and presentation of the substituent at position 2 of the

pyranose moiety on the reactivity of the acetalic center, manno- (10), gluco- (11), and 2-deoxy-gluco- (16) derivatives were explicitly considered. Moreover, to maximize the influence of the aromatic ring on the pyranose behavior, a derivative comprising a 2-deoxy-glucose donor sandwiched between two pyrene platforms was also prepared (18). For comparison purposes, both families include reference compounds equipped with smaller or nonaromatic units (derivatives 4, 5, 7 and 9 for type I models and 12–15, 17 and 19 for type II models). Finally, selected type II models were also prepared incorporating ^{13}C atoms, either at all pyranose positions (11, 14, 15, 16, and 17) or just at the anomeric center (10 and 13). Thus, relatively fast reactions could be conveniently monitored using 2D HSQC NMR experiments, also allowing an easy and sensitive detection of the transient species even in highly overlapped spectra (see the Experimental Section in the Supporting Information, SI).

There are two important differences between models type I and II that are relevant from a reactivity perspective and deserve special attention. First, family I scaffolds generate stable carbohydrate/aromatic complexes with a defined geometry, involving either the α - (1–3, 6) or the β - (8) face of the pyranose (Figure 2a). On the contrary, for type II systems, rotation of the benzylidene moiety with respect to the pyranose unit is allowed. This fact provides a highly dynamic environment to form adaptable carbohydrate/aromatic stacking complexes. Indeed, MD simulations confirm that several interaction geometries are possible for these type II systems. They comprise parallel and parallel-shifted complexes mediated by the α - or β face of the glycoside, together with lateral, edge-to-face aromatic stacking modes involving the hydroxymethyl moiety (Figures 2b and S1). As a second consideration, family I derivatives encompass an unconstrained pyranose donor, while for family II, the pyranose units are fixed by the 4,6-O-benzylidene moiety. Consequently, only a reduced subset of the pyranose conformational space is available for the oxocarbenium-like transition states/intermediates. The resulting combinations (fixed stacking/flexible pyranose, in models type I and adaptable stacking/constrained pyranose, in models type II) allow dissecting the influence of aromatic stacking on the glycoside reactivity in two complementary scenarios.

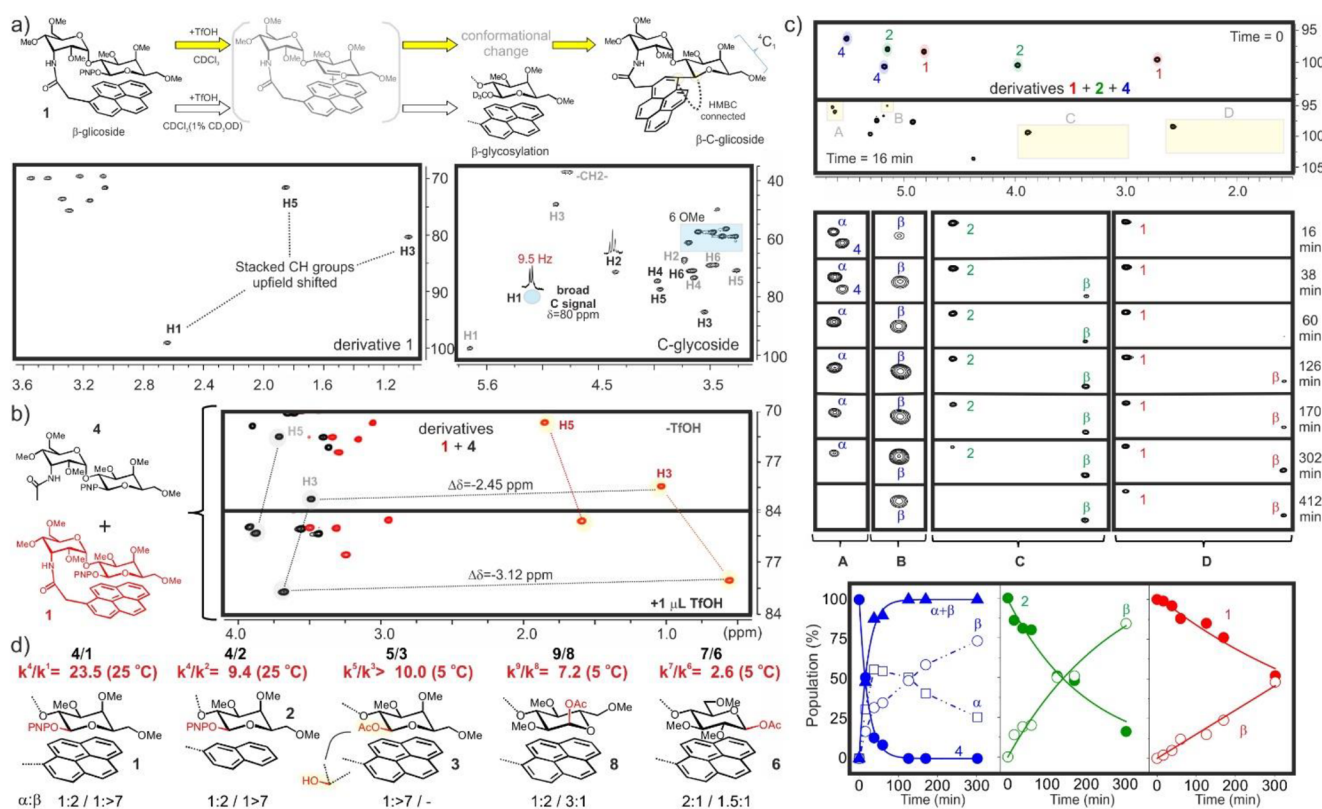


Figure 3. Family I. a) Top—Chemical evolution of **1** upon treatment with triflic acid, both in the absence and presence of 1% CD₃OD. Bottom—Key region of the HSQC NMR spectra recorded for **1**, along with the proposed C-glycosidic structure. b) HSQC spectra of a **1**(red)/**4**(black) mixture before and after triflic acid addition. $\Delta\delta$ values (ppm) for representative signals are indicated. c) Reactivity assays with a **1**(blue)/**2**(green)/**4**(red) equimolecular mixture in CDCl₃ (1% CD₃OD) at 25 °C. Top—Initial data sets (anomeric region). Middle—Insets A–D (highlighted with yellow boxes above) at different times. Bottom—Reaction profiles derived from the integration of anomeric cross-peaks. d) Kinetic constant ratios measured for **1-3**, **6** and **8** with respect to the corresponding reference derivatives. The resulting anomeric α : β ratios are also shown.

The anomeric leaving groups for both scaffolds were selected based on chemical considerations (Figure 2c). Family I derivatives are structurally more complex and more challenging to obtain with ¹³C-labels. Therefore, they were tested in straightforward acid-catalyzed methanolysis reactions, for which acid labile *p*-nitro-phenoxy or acetoxy anomeric substituents were incorporated at the reactive site. These processes are assumed to proceed through cationic transition states.⁹ However, family II scaffolds afforded less overlapped NMR spectra. The use of ¹³C-labels for particular models offered the opportunity to carry out more demanding, low temperature assays with relevant glycosylation reaction conditions.⁸ Accordingly, these models displayed phenyl sulfoxide moieties as leaving groups. Such glycosylations proceed through a continuum of mechanisms spanning the gap between pure S_N2 and S_N1 processes, as shown by extensive studies performed by Crich and col.⁸ These reactions require the participation of several key intermediates (Figure 2c), including glycosyl triflates²⁰ and/or glycosyl oxocarbenium ions (either solvent equilibrated or forming close ion pairs with the corresponding counterions).⁸ Fortunately, more dissociative processes, involving cationic transition states, can also be favored by the appropriate choice of the acceptor alcohol, as recently shown by Codée and col.²¹ Taking these factors into account, we selected a weakly nucleophilic acceptor such as trifluoroethanol (TFE), unless stated otherwise.

General Synthetic Strategy. The synthetic route for the preparation of all systems is represented in Scheme 1. The glycosylation reaction between a glycosyl donor containing a phenyl 3-azido-3-deoxy α -D-*allo*-thiopyranoside unit^{5b} and the appropriately protected glycosyl acceptor (2-OH-*galacto*-, 3-OH-*gluco*-, and 4-OH-*gluco*-pyranosides, containing a leaving group at the anomeric position from which the oxocarbenium ion could be generated)²² gave the desired ($\alpha 1 \rightarrow 2$)-, ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-, and ($\alpha 1 \rightarrow 4$)-linked disaccharides. The subsequent steps included the Staudinger reduction of the azide moiety followed by amide coupling with the corresponding (aryl)acetic acid to grant access to model systems type I, **1–9**. In a similar manner, 4,6-O-benzylidenation of thioglycosides (*gluco*-, *manno*-, and 2-deoxy-*gluco*-) with the appropriate arylaldehyde dimethylacetal, followed by the analogous Staudinger reduction/amide coupling sequence provided the target constrained pyranose type II systems, **10–19**. A detailed description of the synthetic protocols, together with the characterization of products and intermediates, is included in the SI.

Reactivity Evaluation of Family I Systems: Methanolysis Reactions. Once the synthesis of the target models was successfully accomplished, we proceeded to verify the formation of the anticipated carbohydrate/aromatic complexes in solution. Satisfactorily, obtained results for **1–9** were in accordance with the design principles previously outlined. As an example, the NMR data for **1** were consistent with the formation of a well-defined complex involving the pyrene platform and the α -face of the reactive unit. Thus, HSQC

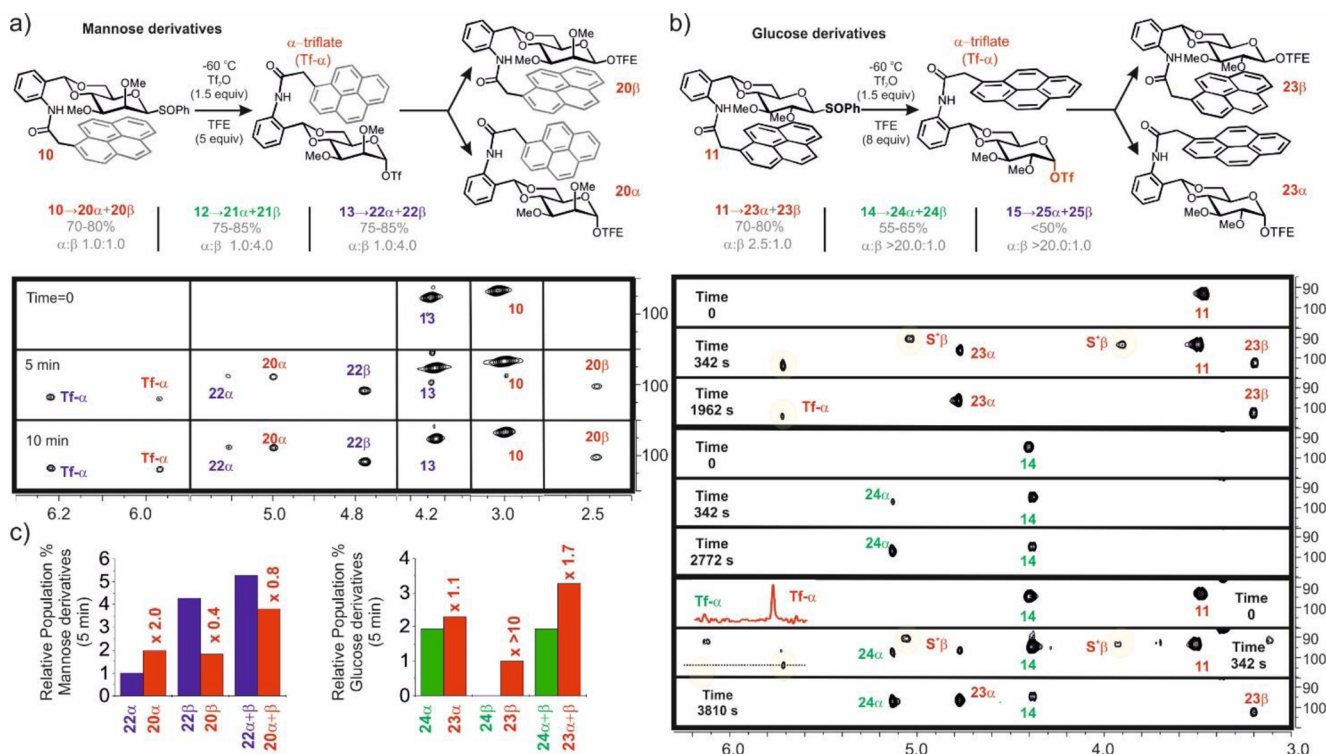


Figure 4. Family II. a) The mannose case. Glycosylation of 10 with TFE. Yields and stereoselectivities obtained from 10, 12, and 13 are shown below. Representative HSQC regions of the NMR-based competition experiment ($-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) carried out with an equimolecular ^{13}C -labeled 10/13 mixture at three different reaction times are displayed. b) The glucose case. Glycosylation of 11 with TFE. Yields and stereoselectivities obtained from 11, 14, and 15 are shown below. Representative HSQC regions of glycosylations ($-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) performed with ^{13}C -labeled 11 (top), 14 (middle) and a 11/14 mixture (bottom) at three different reaction times are displayed. c) Bar charts represent the observed relative populations for the corresponding products at short reaction times.

signals for Gal H1, H3, and H5 appear extremely upfield shifted in the ^1H dimension (Figures 3a, left and S1), highlighting their direct involvement in strong CH/ π bonds with the aromatic unit. To reveal the impact of such interaction pattern on the pyranose reactivity, the methanolysis of compound 1, and the corresponding references 2 and 4, was monitored using 2D-HSQC experiments in deuterated chloroform at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figure 3a–c). Interestingly, the addition of 1 μL of triflic acid to a solution of disaccharide 1 in the absence of acceptor alcohol led to an extreme broadening of the NMR signals, consistent with the presence of several species in the intermediate exchange regime on the NMR chemical shift time-scale. Quenching of this sample with 5 μL of CD_3OD yielded a major product, with no carbohydrate/aromatic stacking, as judged from the observed chemical shift data. This derivative proved to be extremely unstable, rendering all isolation efforts fruitless. Fortunately, both NMR and mass spectrometry analyses of the reaction mixture provided key structural information, strongly suggesting the formation of the highly strained macrocyclic C-glycoside shown in Figure 3a (see also Figure S2). Thus, the Gal anomeric carbon (with a broad peak at δ_{C} 80 ppm) presented nonambiguous HMBC and NOE correlations with the pyrene unit. Moreover, the measured $^3J_{\text{HH}}$ coupling constants were still fully consistent with a $^4\text{C}_1$ conformation for both pyranose units. More intriguingly, the final C-glycoside exhibits a β -configuration as shown by its $^3J_{\text{H1-H2}}$ coupling constant (9.5 Hz). This was totally unanticipated from the structure of the original carbohydrate/pyrene complex (with the aromatic unit stacked

on the α -face of the galactose), suggesting that formation of the glycosyl cation is followed by a significant conformational rearrangement (Figure 3a).

In contrast, the addition of 4 μL of triflic acid in the presence of 1% CD_3OD triggers a smooth methanolysis process, which can be conveniently monitored by NMR. Interestingly, this protocol leads to partial protonation of the disaccharides, with opposite behaviors for the pyrene-bearing compounds and the reference derivatives. As an example, Figure 3b displays the HSQC spectra acquired for an equimolecular mixture of 1 (red) and 4 (black) in the absence and presence of TfOH (1 μL). It can be observed that the acidic conditions induce slight downfield shifts in the NMR signals of model 4. On the contrary, for 1 those protons already involved in CH/ π interactions with the aromatic platform are shielded even further. As a consequence, the chemical shift perturbations promoted by aromatic stacking on the reactive pyranose unit (with respect to reference compound 4, see Figure 3b) are significantly enhanced, reaching unusual values even larger than $\Delta\delta > 3\text{ ppm}$. In conclusion, partial protonation of the reactive pyranose turns the original CH/ π interactions into a much stronger cation/ π interaction leading to a significant stabilization of the carbohydrate/aromatic complex. A similar behavior was observed for all the stacking complexes tested regardless of the pyranose interacting face (α or β), as gathered in Figures 3b and S3–S6.

The chemical evolution of an equimolecular mixture of 1, 2, and 4, upon the addition of triflic acid is represented in Figure

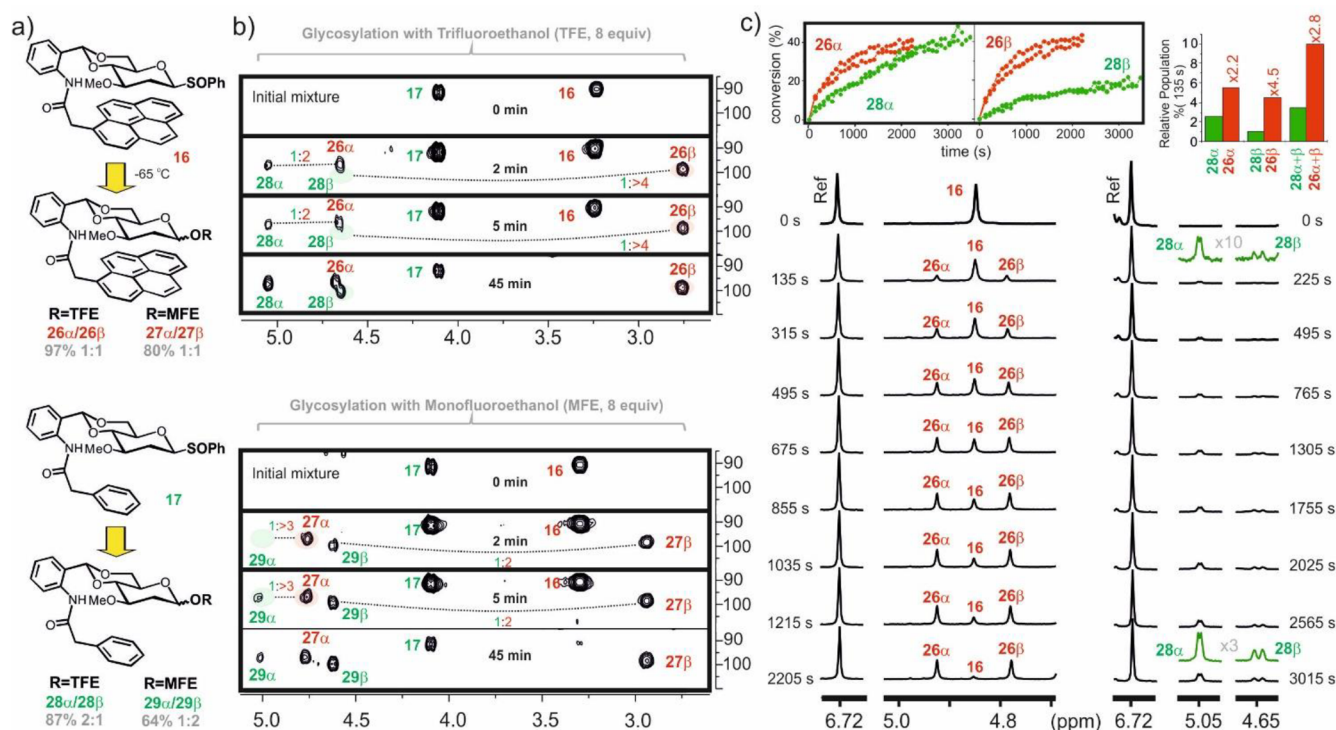


Figure 5. Family II. The 2-deoxy-glucose case. a) Reactions with **16** (up) and **17** (down) at -65 °C employing TFE or MFE. Yields and stereoselectivities are shown. b) Competition experiments with equimolecular ^{13}C -labeled **16**/**17** mixtures with TFE and MFE monitored by HSQCs. Data sets measured at different reaction times are displayed. Intensity ratios for the reaction products are indicated. c) Reactions performed either with **16** (left) or **17** (right) employing TFE, monitored through sequential 1D-NMR experiments at -65 °C. Kinetics of formation for the corresponding α and β products, derived from two independent experiments, are superimposed above. Bar chart represents the relative populations for the corresponding products at short reaction times.

3c. The integration of the relevant reagent and product cross-peaks with time allowed to build a reaction time-course for each of the three derivatives assayed. According to these data, reference **4**, for which no aromatic unit is present, rapidly evolves to yield a mixture of methyl α - and β -O-glycosides with a half-reaction time ($t_{1/2}$) ca. 15 min. A slower methanolysis process is apparent for **1** and **2**, containing a pyrenyl and naphthyl residue ($t_{1/2}$ values of 353 and 140 min, respectively). Interestingly, in these latter cases a single β methyl glycoside product was detected. Reaction time-courses were translated into kinetic constants assuming pseudo-first order conditions. Then, the influence of aromatic stacking on reactivity was expressed in terms of kinetic constant ratios ($k^{\text{reference}}/k^{\text{aromatic}}$). Employing this general protocol, the rest of family I model systems were tested. The obtained results are summarized in Figure 3d and reveal a consistent inhibition of the glycoside reactivity by the presence of aromatic stacking. Indeed, these reactivity falls are in the 2- to 20-fold range, depending on the strength and geometry of the original carbohydrate/aromatic interaction. Significantly, this effect is, in some cases, accompanied by an increase in the stereoselectivity of the process, which is particularly clear for the strongest/less reactive complexes. For example, methanolysis of the reference compound **4** produces an initial 2:1 α : β mixture that equilibrates to the final 1:2 ratio observed under these acidic reaction conditions. On the contrary, donor **1**, which is involved in a strong stacking complex with the pyrene unit, yields only the retention β -product. This observation is in accordance with the behavior recently described for an

engineered $\text{S}_{\text{N}}\text{I}$ -synthase (Figure 1b)¹⁷ and might also point to an $\text{S}_{\text{N}}\text{I}$ mechanism for this particular substitution process.

In summary, according to the obtained data, the aromatic systems in family I models exert a preferential stabilization of the ground state and partially charged pyranoses over the oxocarbenium-like transition state, leading to a net increase in the global activation energy of the process. This conclusion is consistent with the apparent strength of the observed CH/ π contacts, specially under acidic conditions (as judged by $\Delta\delta$ values) and suggests that the geometric and dynamic properties of the initial complex are of critical importance for reactivity.

Reactivity Evaluation of Family II Systems: Low-Temperature Glycosylations. With these results in hand, we decided to explore the influence of the pyrene unit in a rather different context. As previously mentioned, type II molecules combine more dynamic carbohydrate/aromatic interactions with a conformationally constrained reactive pyranose. Indeed, the transient dynamic character of the CH/ π bonds is now reflected in the reduced chemical shift perturbations ($\Delta\delta < 2$ ppm for **10**, **11**, and **16** even at temperatures below -50 °C) promoted by the aromatic systems on the sugar unit (Figures S7–S21).

Reactivity assays were individually performed for **10**–**19** at temperatures in the -65/-50 °C range and monitored by 1D and/or 2D-HSQC NMR experiments, employing regular or ^{13}C -labeled molecules (Figures 4, 5, and 6).²² As internal standard for integrations, an equimolecular amount of 4,4,5,5-tetramethyl-2-(1-naphthalenyl)-1,3-dioxolane was included in the reaction mixtures.²³ Considering the increased complexity

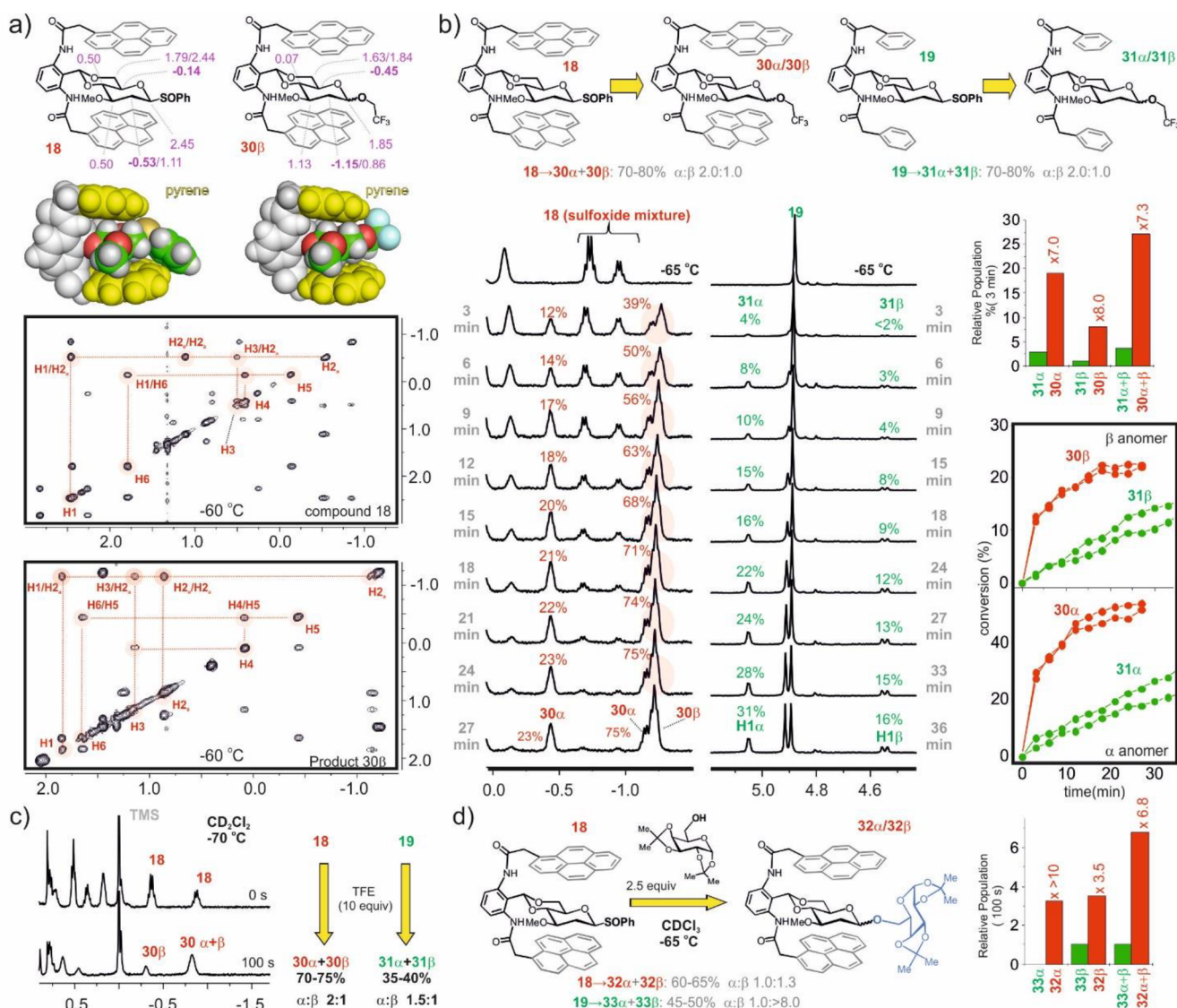


Figure 6. Family II. The 2-deoxy-glucose case. The influence of double stacking. a) Pyranose chemical shift perturbations measured for **18** and **30β** at $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. CPK models for relevant conformations are shown below, together with the assigned COSY NMR experiments. b) The reactions of **18** (left, red) and **19** (right, green) with TFE were monitored by 1D-NMR experiments at $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Yields and stereoselectivities are displayed above. Formation kinetics of the corresponding α and β products are shown on the right. Bar chart represents the relative populations deduced for the glycosylation products at short reaction times. c) Assays carried out in CD_2Cl_2 . For **18** the glycosylation was already complete in the first ^1H NMR spectrum. Yields and stereoselectivities are indicated below. Bar chart represents the relative populations deduced for the glycosylation products at short reaction times. d) Reactions with **18** and **19** employing a synthetically relevant carbohydrate acceptor. Yields and stereoselectivities are displayed above. Bar chart represents the relative populations deduced for the glycosylation products at short reaction times.

of these multicomponent reactions, a minimum of three runs, under identical reaction conditions, were completed for every case. Pairwise competition experiments were also carried out for qualitative comparison purposes. In all cases, glycosyl donors were activated with triflic anhydride in the presence of 5–8 equiv of TFE depending on the model compound, as described in the [Experimental Section](#) (of the SI).

The Mannose Case. The major conformation of **10** is represented in [Figure 4a](#) and displays a preferred stacking geometry that involves the α -face of the mannose unit, as shown by the chemical shift data ([Figure S8](#)). The glycosylation reactions furnished a mixture of products (**20α** and **20β**) with a 70–80% overall yield ([Figure S9](#)), slightly lower than those obtained from the reference compounds **12**

and **13** (75%–85%). Unexpectedly, the stereoselectivity of the process vanishes in the presence of the pyrene system (from 1:4 to 1:1).

NMR experiments performed both with individual donors and equimolecular **10/13** ^{13}C -labeled mixtures allowed us to estimate the relative **20** (α/β) and **22** (α/β) concentrations at short reaction times (5–10 min). The obtained values, which are proportional to the relative formation rates, are represented as a bar chart in [Figure 4c](#) (see also [Figure S10](#)). According to these data, the aromatic stacking has an opposite effect on the individual product formation rates: 2-fold increase for the α -anomer and 2-fold decrease for the β -derivative, consistent with the observed degradation of the stereoselectivity. Interestingly, even in the presence of five equivalents of

TFE, the α -glycosyl triflates formed from both **10** and **13** were detected throughout the reaction and displayed comparable steady concentrations. This behavior reflects the higher nucleophilic character of the triflate anion with respect to TFE or to the aromatic unit itself.^{8,24} It should be noted that the formation of an α -triflate from **10** requires a rearrangement of the initial carbohydrate/aromatic complex, which is greatly facilitated by the adaptable nature of the designed scaffold. Indeed, the pyrene unit swings from the mannose α -face to a lateral disposition, establishing CH/ π bonds with the hydroxymethyl moiety, whose protons are now shielded up to $\Delta\delta = -1.7$ ppm. These intermediates were also characterized by NMR employing a preactivation protocol, as shown in Figure S8. A similar outcome was obtained employing **10/12** mixtures (Figure S11). These unexpected results prompted us to further interrogate alternative aromatic/donor complexes also belonging to family II.

The Glucose Case. β -Glucopyranosyl sulfoxide **11** exhibits a highly dynamic conformational behavior, as deduced from the significant chemical shift perturbations observed for the ^1H NMR resonances for both pyranose faces. MD simulations also supported the coexistence of α - and β -stacking complexes in equilibrium (Figures S1 and S12–S14). Glycosylations with donors **11**, **14**, and **15** (see also Figures S15–S17) revealed a significant effect of the pyrene unit on the observed stereoselectivity, which decreased from >20:1 to 2:1, although with an overall improvement of the reaction yield. The use of ^{13}C -labeled donor molecules allowed to pinpoint further reactivity differences between **11** and the reference derivatives **14** and **15**. Thus, for the pyrene-stacked donor **11**, the process proceeds with a substantial accumulation of three transient activated species: an α -glycosyl triflate and two unidentified β -species, marked as $\text{S}^+\beta$ in Figure 4b. Their ^{13}C NMR chemical shifts and heteronuclear $^1J_{\text{HC}}$ constant values (168 Hz) strongly point at sulfonium species. On the contrary, analogous intermediates were barely detectable in the absence of a stacked aromatic unit (**14** and **15**). Of note, the triflate formed from **11** presents clear CH/ π interactions with the pyrene platform, which in this case are mediated by the pyranose β -face CH groups. This transient triflate species was also prepared following a preactivation protocol, which allowed its unambiguous characterization (Figure S14). Regarding the reaction kinetics, both individual assays and competition experiments revealed that the formation rate of the major α -stereoisomer is marginally increased by the presence of the pyrene unit (Figure 4b, **23 α** vs **24 α**), while that of the minor β -anomer is much more enhanced, as represented in Figure 4c (bar chart). This fact accounts for the observed stereoselectivity.

As a final point, the larger accumulation of intermediate species formed from **11** indicates that their formation and/or consumption rates must be significantly altered by the existence of the carbohydrate/aromatic stacking. Fittingly, preactivation experiments (Figures S18 and S19) confirmed that triflate formation is significantly accelerated in the presence of the pyrene unit, strongly suggesting the presence of a transition state with a significant cationic character for this step.

The 2-Deoxy-Glucose Case. Among common glycoside donors, 2-deoxy-derivatives, lacking an electron-withdrawing substituent at the neighboring position to the anomeric center, present the highest tendency to evolve through dissociative, more cationic transition states.²⁵ This fact ensures a $\text{S}_{\text{N}}1$ -like

behavior even when nucleophilic alcohols are considered. Accordingly, for the reactivity analysis of these models, monofluoroethanol (MFE) was incorporated as an additional acceptor.

NMR reactivity experiments performed with ^{13}C -labeled models revealed, in all cases, a clean evolution from reagents to products, with no detectable intermediates, which is consistent with the higher reactivity expected for any potential transient species involved. Glycosylation yields, either with TFE or with MFE, were improved in the presence of the pyrene platform (Figures 5a and S20). On the contrary, the α/β stereoselectivity of these processes, already marginal for the reference compounds (2:1 and 1:2 with TFE and MFE, respectively) was further reduced in these cases. Interestingly, competition experiments monitored by HSQC spectra showed that this effect relies on a substantial acceleration in the production of the minor anomer, regardless of their stereochemistry or the alcohol employed in each case. That is, while the presence of the pyrene moiety significantly accelerates the formation of the β -linked product with TFE (**26 β** vs **28 β**), it promotes the same effect but for the α -anomer with MFE (**27 α** vs **29 α** Figure 5a).

Regarding glycosylations with TFE, the presence of well resolved ^1H NMR signals for reagents and products prompted us to carry out additional experiments to monitor the individual reaction kinetics through sequential low-temperature 1D-NMR experiments. The representative time courses independently obtained from the evolution of **16** and **17** are shown in Figure 5c, along with the relative initial reaction rates. The analysis of these data revealed a modest 2-fold increase for the formation rate of the α -anomer (**26 α**), and a concomitant 4-fold increase for the β -anomer (**26 β**), thus equating both formation rates and explaining the observed 1:1 stereoselectivity. Overall, the glycosylation reaction is 3-fold faster ($\alpha + \beta$ products) in the presence of the pyrene platform (Figure 5b, bar chart).

Encouraged by these promising results, we decided to push these latter models one step further into the $\text{S}_{\text{N}}1$ realm by the incorporation of a second pyrene moiety. To our delight, unprecedented shieldings (with ^1H NMR signals appearing with negative chemical shifts up to $\delta_{\text{H}} = -1.3$ ppm) were induced by this optimized covalent scaffold for **18** and its corresponding glycosylation products **30 α/β** (Figure 6a). Of note, MD simulations showed that this effect results from the additive influence of both aromatic platforms, but does not imply a significantly tighter, more rigid geometry of the CH/ π complex.

Reactions of both **18** and the reference derivative **19** with TFE yielded the final glycosylation products (**30 α/β** and **31 α/β**) with identical yields (in the 70–80% range) and stereoselectivities (1:2).

Satisfactorily, a careful monitorization of the glycosylation progress through sequential low-temperature 1D-NMR experiments was greatly facilitated by the presence of several proton signals with negative δ_{H} values. Product conversions at the shortest reaction time tested (already showing a 40% evolution for **18**) were consistent with a 7-fold increase in the glycosylation rates for **30 α** - and **30 β** -anomers, as displayed in Figure 6b (see also Figure S21). Moreover, these effects seem further noticeable in the presence of extremely poor O-nucleophiles, such as hexafluoroisopropanol (HFIP) (see Figure S22).

As expected, increasing the solvent dielectric from chloroform ($\epsilon = 4.81$) to dichloromethane ($\epsilon = 8.93$) translates in faster glycosylation rates. However, reference model **19** still

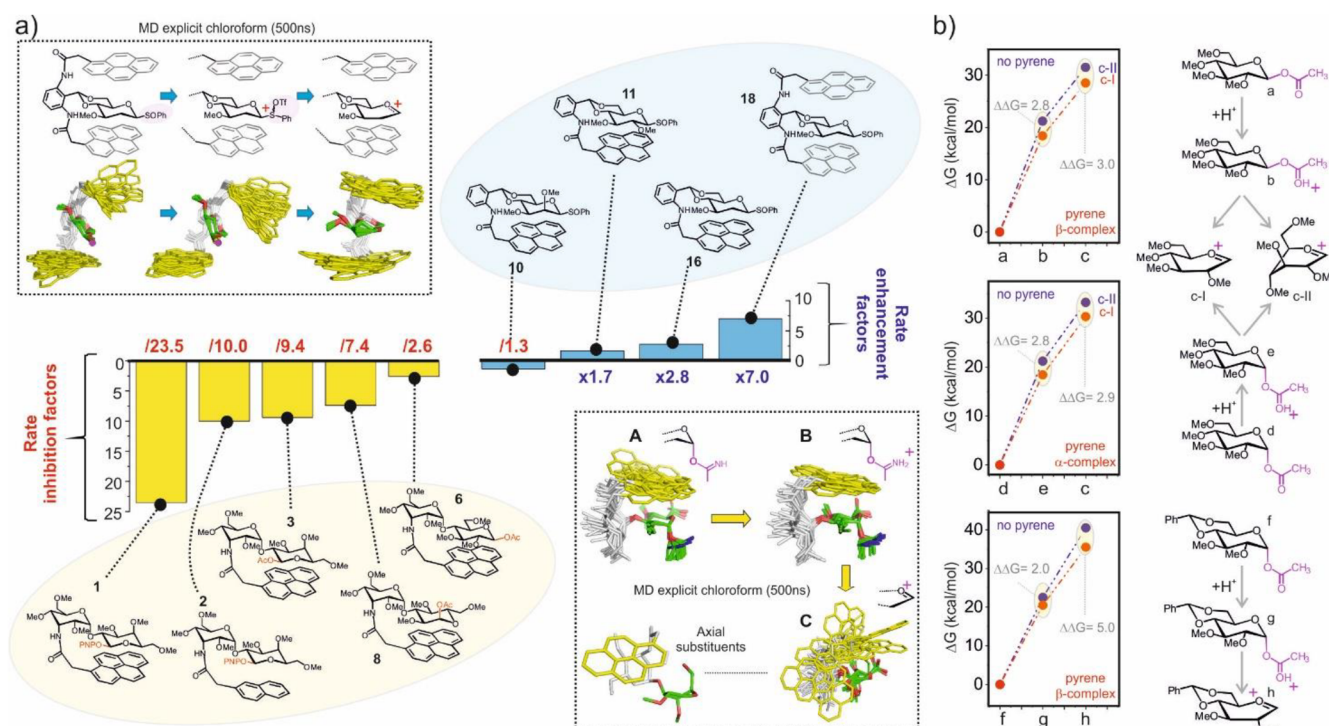


Figure 7. a) Summary of the results obtained for family I (left, yellow) and family II (right, cyan). The influence of the aromatic platform is expressed as rate inhibition (downward) or enhancement (upward) factors. Numeric values are shown in red and blue, respectively. Views of the conformational ensembles for the ground, activated and glycosyl cation states derived from solvated MD simulations (explicit CHCl_3) with a modified version of model 6 (bottom-right corner) and with 18 (top-left corner). b) Free energy penalty associated with the protonation of models a, d, f, (top to bottom) and the subsequent glycosyl cation formation, in the presence (red) and absence (blue) of a complexed pyrene platform calculated by quantum mechanics with PCM/M06-2X/6-31g(d,p) in chloroform. The geometry of the complex (α or β) is also indicated. Net stabilizations promoted by the pyrene unit are expressed as $\Delta\Delta G$ (kcal/mol). The most stable conformations of the glycosyl cations were considered for the free and complexed states.

reacts significantly slower than the sandwiched donor 18 (whose reaction is now too fast to be followed by NMR Figures 6c and S23). Of note, the acceleration observed for 18 is accompanied by a significant increase in the reaction yield.

Finally, models 18 and 19 were assayed in the context of a more conventional glycosylation reaction, employing the galactose acceptor shown in Figure 6d (see also Figure S24). These experiments showed that the favorable influence exerted by aromatic platforms on the reaction rates are not limited to small, weakly nucleophilic alcohols but, to some extent, also hold for carbohydrate acceptors used in a slight stoichiometric excess. Interestingly, while reference derivative 19 reacts with significant stereoselectivity to yield a major β -glycosidation product, sandwiched donor 18 furnishes an almost equimolecular α : β mixture. According to these results, the employed galactose acceptor would react with reference 19 through a more associative process, probably involving an α -triflate intermediate, and with 18 in a more dissociative $\text{S}_{\text{N}}1$ -like manner.

In summary, the combination of a 2-deoxy-glucopyranose donor with the appropriately positioned aromatic platforms has permitted, for the first time, the observation of glycosylation rate enhancements associated with carbohydrate/aromatic interactions.

DISCUSSION

The results described in the previous sections for families I and II reveal a striking behavior, where the pyrene unit exerts a

gradient of effects on the pyranose reactivity, ranging from significant inhibitions to moderate rate enhancements, as summarized in Figure 7. These data can be globally understood by considering the major driving forces that stabilize aromatic/carbohydrate complexes and how they evolve throughout the chemical reactions. On the one hand, the development of positive charge at the anomeric position reinforces attractive electrostatic interactions with the aromatic electronic quadrupole. This effect would be expected to be most significant under low dielectric environments and for highly dissociative $\text{S}_{\text{N}}1$ -like processes. On the other hand, as the anomeric leaving group departs, the reactive pyranose distorts. In the simplest scenario, anomeric sp^3 to sp^2 rehybridization would imply that shape complementarity between the pyranose and the aromatic platform, optimal for a ${}^4\text{C}_1$ chair, is decreased, determining the disruption of at least one CH/π bond (the one involving the anomeric CH). Furthermore, for unconstrained pyranoses, more dramatic conformational changes could take place, thus leading to an overall deterioration of the van der Waals interactions with the aromatic platform. According to this view, the net influence of aromatic stacking on the pyranose reactivity depends on a delicate balance between two conflicting energy contributions: electrostatic and van der Waals, favoring and opposing chemical evolution, respectively.

Regarding family I models, they encompass an unconstrained reactive ${}^4\text{C}_1$ pyranose participating in strong CH/π interactions with the aromatic unit, in both the ground and

activated (protonated) states. The experimentally observed decrease in reactivity for the carbohydrate/aromatic complexes indicates that the weakening of the van der Waals interactions at the transition state is not compensated by electrostatic forces. Indeed, CH/ π and electrostatic contributions seem to be much more stabilizing for the activated species than for the distorted transition state, totalling in a net increase in the activation energy. This view is further supported by MD simulations (Figure 7a), which predict that a protonation of the anomeric substituent reinforces the CH/ π bonds, leading to a well-defined interaction pose, in agreement with the experimental chemical shift perturbations (Figure 2b). Significantly, the departure of the leaving group increases the internal mobility of the complex and frequent disruptions of the carbohydrate/aromatic contacts take place, due to the lack of an appropriate shape complementarity between the aromatic platform and the newly formed glycosyl cation. Indeed, the presence of axially oriented substituents in several of the conformational states of these species is not compatible with the geometric requirements for establishing optimal CH/ π interactions. On the contrary, for family II models, the presence of weaker, more dynamic CH/ π bonds in the ground state of the constrained pyranose analogues determine their distinct behavior. Three common trends are apparent from the obtained data: first, the larger the S_N1 character of the reaction, the more favorable the influence exerted by the aromatic platform. Accordingly, major enhancements in the glycosylation rates are observed only for 2-deoxy-gluco-donors. Second, the conformational restriction imposed on the donor pyranose allows for a more optimized glycosyl cation/aromatic complex, as deduced by the analysis of the MD simulations (Figure 7a). Third, despite the improved shape complementarity between the pyrene unit and the nascent glycosyl oxocarbenium intermediate/transition state, the interactions are still highly mobile. Thus, the aromatic system provides a nurturing, more polar local environment for the developing pyranose charge, rather than fixing a preferred geometry of the complex, which translates into rate enhancements that are not accompanied by any particular stereocontrol. For example, for **18** no variation in the stereoselectivity of the reaction was detected with respect to reference model **19** when TFE was used as an acceptor (Figure 6a,b). On the contrary, the bulkier, more nucleophilic diacetone galactose yielded an opposite outcome (Figure 6d and S24): a preferential increase in the formation rate of the minor anomer, which determines a reduction in the reaction stereoselectivity. A similar behavior was also observed for donors **10**, **11**, and **16**, which overall can be interpreted in terms of a *shift in the reaction mechanism toward a more dissociative S_N1 -like process*. Interestingly, rate accelerations do come with moderate-to-significant improvements in the reaction yields for most analyzed derivatives (for example, **11** vs **14** or **15**, or models **16** vs **17**). This effect is clearly observable in the reaction of pair **18/19** with TFE in dichloromethane (Figures 6c and S23) and suggests that the aromatic platforms exert a certain protective influence, limiting the negative impact of undesired parasitic reactions on the glycosylation outcome. Consistently, we have also shown that these trends are maintained in other solvents, or mixtures of solvents with ranging polarities (Figure S23).

In summary, while the presence of aromatic quadrupole platforms facilitates the formation of glycosyl cations by electrostatic forces, pyranose distortion is detrimental for the establishment of proper CH/ π contacts. Significantly, quantum

mechanics calculations (PCM/M06-2X/6-31g(d,p) in chloroform) performed with simplified 1-O-acetyl model glycosides (Figure 7b), either constrained (f) or unconstrained (a and d), predict an enhanced stabilization of the glycosyl cation by the pyrene unit in the former complex f ($\Delta\Delta G$ of 5 kcal/mol vs 2.9–3.0 kcal/mol), in accordance with our experimental observations. Nevertheless, the theoretical stabilizations are, in all cases, overestimated, which might reflect the limitations inherent to these theoretical methods (implicit solvation, simplified intermolecular model complexes, absence of triflate counterions).

Overall, these data show that aromatic stacking promotes and facilitates S_N1 anomeric substitutions with all the expected consequences from a synthetic perspective. The fundamental information derived from our studies could now be extrapolated to a more general chemical or enzymatic context. Hence, while measured accelerations are moderate, much larger enhancements would conceivably result from the additive influence of several, properly positioned aromatic platforms. According to our data, geometrical considerations are key to this goal. In particular, conventional parallel stacking leads to conflicting electrostatic and van der Waals contributions into the activation energy, which can limit or even, overturn the favorable influence exerted by the aromatic platform. Alternative stacking geometries, either lateral or parallel-shifted, could alleviate this conflict. This view is also supported by the unusual stacking modes observed in the active site of several glycosidases in complex with ligands or inhibitors (pdb codes 3WY4 or 2J77. Figure S25), which usually involve the formation of only one or two CH/ π bonds per aromatic interaction, in contrast with the typical parallel stacking geometries (fully involving either the α - or β - face of the interacting pyranose) that take place in lectins and CBMs. This phenotypic recurring feature probably reflects the need to maintain the sugar ring relatively unconstrained by the aromatic residue, allowing the penalty-free pyranose distortions required for the reaction to proceed. Interestingly, quantum mechanics calculations performed on a simplified inhibitor/active site complex strongly suggest that interacting aromatic side-chains also contribute to stabilize the substrate positive charge, while keeping the active site free of water molecules (Figure S26).

It is worth mentioning that conflicting electrostatic and dispersive contributions to the activation energy could also be tilted in favor of the former by the incorporation of electron-donating substituents on the aromatic platform, which provides an alternative strategy to further reduce the transition state energy. Accordingly, previous studies by our group have shown that this modification indeed enhances carbohydrate/aromatic electrostatic forces, while having a lesser influence on the dispersive component of the stacking complexes.^{5a} Carefully designed systems based on these concepts might eventually lead to the development of synthetic carbohydrate receptors with catalytic properties or engineered enzymes carrying unnatural amino acids.

In view of the results presented in this work, aromatic moieties can indeed contribute to the catalysis of highly dissociative anomeric substitutions, provided that the electrostatics outcompete the van der Waals contributions to the activation energy.

CONCLUSIONS

While the participation of aromatic platforms in the molecular recognition of carbohydrates is undeniable, its potential involvement in catalysis remains an open question. In the work presented herein, we have tackled this issue by answering a simple question of fundamental relevance in glycoscience: can glycosyl cations be stabilized by aromatic platforms? Accordingly, we have dissected, in a systematic and extensive manner, the influence exerted by aromatic stacking on glycosylation or glycoside solvolysis reactions, whereby the potential of aromatic platforms as key elements to sense and stabilize transient positive charge development was evaluated. The results derived from our study provide an affirmative answer to the aforementioned question: *aromatic platforms can indeed accelerate and improve SN1-like glycosylations, presumably by stabilizing positively charged transition states through cation/ π interactions*. The obtained data also lent some meaningful insight into the nature of glycosyl cation/aromatic interaction and its influence on glycosylations. First, the glycosylations with 2-deoxy-donors, even in highly apolar environments and at very low temperatures, must involve highly cationic transition states, whereas glucose and mannose derivatives seem to proceed through either close ion pairs or highly reactive covalent intermediates. Second, glycosyl cation/aromatic interactions tend to be highly dynamic, thus reflecting the lack of a proper shape complementarity between both species. As a consequence, for flexible systems, they can exert a negligible influence on the stereoselectivity of the process. For more associative processes, the ability of aromatic units to selectively hinder bimolecular substitutions, while still promoting the development of positive charge at the anomeric center, seems to determine a shift in the reaction mechanism toward the SN1, which has a concomitant negative impact on the overall stereoselectivity. This effect is especially clear when using bulky/nucleophilic acceptors, and it is maintained for alternative solvents.

Finally, glycoside/aromatic complexes stabilized by strong CH/ π interactions already present in the ground state can indeed undergo SN1-like reactions, such as solvolysis, with a greatly improved stereoselective outcome. Yet, this effect is accompanied by an increase in the activation energy of the process, which translates into a slower reaction rate, as exemplified by the methanolysis of model system 1.

To the best of our knowledge, this represents the first experimental study on the influence of cation/ π interactions in the formation and cleavage of glycosidic linkages, whose potential implications branch out into general catalysis and CAzyme engineering.

METHODS

A detailed description of the experimental and synthetic protocols together with the characterization of products and intermediates is included in the SI.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/jacs.9b03285.

A detailed description of the experimental methods and synthetic protocols together with the characterization of products and intermediates; Figures S1–S26 showing details of the NMR and reactivity experiments (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*juanluis.asensio@csic.es

ORCID

Andrés G. Santana: 0000-0003-3568-7714

Francisco Corzana: 0000-0001-5597-8127

Gonzalo Jiménez-Osés: 0000-0003-0105-4337

Jesús Jiménez-Barbero: 0000-0001-5421-8513

Ana M. Gómez: 0000-0002-8703-3360

Juan Luis Asensio: 0000-0001-7536-5221

Author Contributions

[†]These authors contributed equally to this work.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This investigation was supported by research grants of the Spanish “Plan Nacional” CTQ2016-79255-P/CTQ2015-66702-R and the Mizutani Foundation for Glycoscience 17-0045. A.G.S. and L.M.-J. acknowledge the Spanish Ministerio de Economía, Industria y Competitividad for a Juan de la Cierva contract (IJCI-2016-29785) and for a FPI contract (BES-2014-070232), respectively.

REFERENCES

- (1) (a) Asensio, J. L.; Ardá, A.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J. Carbohydrate-Aromatic Interactions. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 946–954. (b) Terraneo, G.; Potenza, D.; Canales, A.; Jiménez-Barbero, J.; Baldrige, K. K.; Bernardi, A. A Simple Model System for the Study of Carbohydrate–Aromatic Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2890–2900. (c) Fernández-Alonso, M. C.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. Molecular Recognition of Saccharides by Proteins. Insights on the Origin of the Carbohydrate–Aromatic Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7379–7386. (d) Ramírez-Gualito, K.; Alonso-Ríos, R.; Quiroz-García, B.; Rojas-Aguilar, A.; Díaz, D.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. Enthalpic Nature of the CH/ π Interaction Involved in the Recognition of Carbohydrates by Aromatic Compounds, Confirmed by a Novel Interplay of NMR, Calorimetry, and Theoretical Calculations. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18129–18138. (e) Chavez, M.; Andreu, C.; Vidal, P.; Aboitiz, N.; Freire, F.; Groves, P.; Asensio, J. L.; Asensio, G.; Muraki, M.; Cañada, F. J.; Jimenez-Barbero, J. On the Importance of Carbohydrate–Aromatic Interactions for the Molecular Recognition of Oligosaccharides by Proteins: NMR Studies of the Structure and Binding Affinity of AcAMP2-like Peptides with Non-Natural Naphthyl and Fluoroaromatic Residues. *Chem. - Eur. J.* **2005**, *11*, 7060–7074.
- (2) (a) Phillips, D. C. The hen egg-white lysozyme molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1967**, *57*, 483–495. (b) Glickson, J. D.; Phillips, W. D.; Rupley, J. A. Proton magnetic resonance study of the indole NH resonances of lysozyme. Assignment, deuterium exchange kinetics, and inhibitor binding. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4031–4035. (c) Quiocho, F. A. Carbohydrate-binding proteins-tertiary structures and protein-sugar interactions. *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, *55*, 287–315. (d) Lutteke, T.; Frank, M.; von der Lieth, C. W. Carbohydrate Structure Suite (CSS): analysis of carbohydrate 3D structures derived from the PDB. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *33*, D242–D246.
- (3) (a) Tromans, R. A.; Carter, T. S.; Chabanne, L.; Crump, M. P.; Li, H.; Matlock, J. V.; Orchard, M. G.; Davis, A. P. A biomimetic receptor for glucose. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 52–56. (b) Rios, P.; Mooibroek, T. J.; Carter, T. S.; Williams, C.; Wilson, M. R.; Crump, M. P.; Davis, A. P. Enantioselective carbohydrate recognition by synthetic lectins in water. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 4056–4061. (c) Rios, P.; Carter, T. S.; Mooibroek, T. J.; Crump, M. P.; Lisbjerg, M.

- Pittelkow, M.; Supekar, N. T.; Boons, G.-J.; Davis, A. P. Synthetic Receptors for the High-Affinity Recognition of O-GlcNAc Derivatives. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 3387–3392. (d) Mooibroek, T. J.; Casas-Solvas, J. M.; Harniman, R. L.; Renney, C. M.; Carter, T. S.; Crump, M. P.; Davis, A. P. A threading receptor for polysaccharides. *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 69–74. (e) Ke, C.; Destecroix, H.; Crump, M. P.; Davis, A. P. A simple and accessible synthetic lectin for glucose recognition and sensing. *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 718–723. (f) Davis, A. P. Supramolecular chemistry: Sticking to sugars. *Nature* **2010**, *464*, 169–170. (g) Ferrand, Y.; Crump, M. P.; Davis, A. P. A synthetic lectin analog for biomimetic disaccharide recognition. *Science* **2007**, *318*, 619–622.
- (4) (a) Hudson, K. L.; Bartlett, G. J.; Diehl, R. C.; Agirre, J.; Gallagher, T.; Kiessling, L. L.; Woolfson, D. N. Carbohydrate–Aromatic Interactions in Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 15152–15160. (b) Laughrey, Z. R.; Kiehna, S. E.; Riemen, A. J.; Waters, M. L. Carbohydrate– π Interactions: What Are They Worth? *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14625–14633. (c) Kiehna, S. E.; Laughrey, Z. R.; Waters, M. L. Evaluation of a carbohydrate– π interaction in a peptide model system. *Chem. Commun.* **2007**, *39*, 4026–4028. (d) Hsu, C.-H.; Park, S.; Mortenson, D. E.; Foley, B. L.; Wang, X.; Woods, R. J.; Case, D. A.; Powers, E. T.; Wong, C.-H.; Dyson, H. J.; Kelly, J. W. The Dependence of Carbohydrate–Aromatic Interaction Strengths on the Structure of the Carbohydrate. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 7636–7648.
- (5) (a) Jiménez-Moreno, E.; Jiménez-Osés, G.; Gómez, A. M.; Santana, A. G.; Corzana, F.; Bastida, A.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L. A thorough experimental study of CH/ π interactions in water: quantitative structure–stability relationships for carbohydrate/aromatic complexes. *Chemical Science* **2015**, *6* (11), 6076–6085. (b) Jiménez-Moreno, E.; Gómez, A. M.; Bastida, A.; Corzana, F.; Jiménez-Osés, G.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L. Modulating weak interactions for molecular recognition: A dynamic combinatorial analysis for assessing the contribution of electrostatics to the stability of CH– π bonds in water. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 4344–4348. (c) Santana, A. G.; Jiménez-Moreno, E.; Gómez, A. M.; Corzana, F.; González, C.; Jiménez-Osés, G.; Jiménez-Barbero, J.; Asensio, J. L. A dynamic combinatorial approach for the analysis of weak carbohydrate/aromatic complexes: Dissecting facial selectivity in CH/ π stacking interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3347–3350.
- (6) (a) Ma, J. C.; Dougherty, D. A. The cation– π interaction. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1303–1324. (b) Dougherty, D. A. Cation– π interactions in chemistry and biology: A new view of benzene, Phe, Tyr, and Trp. *Science* **1996**, *271*, 163–168.
- (7) Neel, A. J.; Hilton, M. J.; Sigman, M. S.; Toste, F. D. Exploiting non-covalent π interactions for catalyst design. *Nature* **2017**, *543*, 637–646.
- (8) (a) Adero, P. O.; Amarasekara, H.; Wen, P.; Bohe, L.; Crich, D. The Experimental Evidence in Support of Glycosylation Mechanisms at the SN1–SN2 Interface. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 8242–8284. (b) Adero, P. O.; Furukawa, T.; Huang, M.; Mukherjee, D.; Retailleau, P.; Bohé, L.; Crich, D. Cation clock reactions for the determination of relative reaction kinetics in glycosylation reactions: Applications to gluco- and mannopyranosyl sulfoxide and trichloroacetimidate type donors. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10336–10345. (c) Huang, M.; Retailleau, P.; Bohé, L.; Crich, D. Cation clock permits distinction between the mechanisms of α - and β -O- and β -C-glycosylation in the mannopyranose series: Evidence for the existence of a mannopyranosyl oxocarbenium ion. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14746–14749. (d) Huang, M.; Garrett, G. E.; Birlirakis, N.; Bohé, L.; Pratt, D. A.; Crich, D. Dissecting the mechanisms of a class of chemical glycosylation using primary ^{13}C kinetic isotope effects. *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 663–667. (e) Crich, D. Mechanism of a chemical glycosylation reaction. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1144–1153. (f) Crich, D.; Chandrasekera, N. S. Mechanism of 4,6-O-benzylidene-directed β -mannosylation as determined by α -deuterium kinetic isotope effects. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5386–5389.
- (9) (a) Bennet, A. J.; Sinnott, M. L. Complete kinetic isotope effect description of transition states for acid-catalyzed hydrolyses of methyl- α - and β -glucopyranosides. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7287–7294. (b) Namchuk, M. N.; McCarter, J. D.; Becalski, A.; Andrews, T.; Withers, S. G. The Role of Sugar Substituents in Glycoside Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1270–1277. (c) Chan, J.; Tang, A.; Bennet, A. J. A Stepwise Solvent-Promoted SNi Reaction of α -d-Glucopyranosyl Fluoride: Mechanistic Implications for Retaining Glycosyltransferases. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1212–1220. (d) Beaver, M. G.; Buscagan, T. M.; Lavinda, O.; Woerpel, K. A. Stereoelectronic Model to Explain Highly Stereoselective Reactions of Seven-Membered-Ring Oxocarbenium-Ion Intermediates. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 1816–1819. (e) Smith, D. M.; Woerpel, K. A. Electrostatic interactions in cations and their importance in biology and chemistry. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1195–1201. (f) van Rijssel, E. R.; van Delft, P.; Lodder, G.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V.; Codee, J. D. C. Furanosyl oxocarbenium ion stability and stereoselectivity. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 10381–10385. (g) Ayala, L.; Lucero, C. G.; Romero, J. A. C.; Tabacco, S. A.; Woerpel, K. A. Stereochemistry of Nucleophilic Substitution Reactions Depending upon Substituent: Evidence for Electrostatic Stabilization of Pseudoaxial Conformers of Oxocarbenium Ions by Heteroatom Substituents. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15521–15528.
- (10) (a) Chatterjee, S.; Moon, S.; Hentschel, F.; Gilmore, K.; Seeberger, P. H. An Empirical Understanding of the Glycosylation Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 11942–11953. (b) Heuckendorff, M.; Bendix, J.; Pedersen, C. M.; Bols, M. β -selective mannosylation with a 4,6-silylene-tethered thiomannosyl donor. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1116–1119.
- (11) Martin, A.; Arda, A.; Désiré, J.; Martin-Mingot, A.; Probst, N.; Sinaÿ, P.; Jiménez-Barbero, J.; Thibaudau, S.; Blériot, Y. Catching elusive glycosyl cations in a condensed phase with HF/SbF₅ superacid. *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 186–191.
- (12) (a) Mucha, E.; Marianski, M.; Xu, F. F.; Thomas, D. A.; Meijer, G.; von Helden, G.; Seeberger, P. H.; Pagel, K. Unravelling the structure of glycosyl cations via cold-ion infrared spectroscopy. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1–5. (b) Elferink, H.; Severijnen, M. E.; Martens, J.; Mensink, R. A.; Berden, G.; Oomens, J.; Rutjes, F. P. J. T.; Rijs, A. M.; Boltje, T. J. Direct Experimental Characterization of Glycosyl Cations by Infrared Ion Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 6034–6038.
- (13) Lillelund, V. H.; Jensen, H. H.; Liang, X.; Bols, M. Recent Developments of Transition-State Analogue Glycosidase Inhibitors of Non-Natural Product Origin. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515–553.
- (14) (a) Danby, P. M.; Withers, S. G. Glycosyl Cations versus Allylic Cations in Spontaneous and Enzymatic Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10629–10632. (b) Zechel, D. L.; Withers, S. G. Glycosidase Mechanisms: Anatomy of a Finely Tuned Catalyst. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 11–18. (c) Vasella, A.; Davies, G. J.; Bohm, M. Glycosidase mechanisms. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 619–629.
- (15) (a) Ren, W.; Pengelly, R.; Farren-Dai, M.; Abadi, S. S. K.; Oehler, V.; Akintola, O.; Draper, J.; Meanwell, M.; Chakladar, S.; Swiderek, K.; Moliner, V.; Britton, R.; Gloster, T. M.; Bennet, A. J. Revealing the mechanism for covalent inhibition of glycoside hydrolases by carbasugars at an atomic level. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1–12. (b) Shamsi Kazem Abadi, S.; Tran, M.; Yadav, A. K.; Adabala, P. J. P.; Chakladar, S.; Bennet, A. J. New Class of Glycoside Hydrolase Mechanism-Based Covalent Inhibitors: Glycosylation Transition State Conformations. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10625–10628.
- (16) Nerinckx, W.; Desmet, T.; Claeysens, M. A hydrophobic platform as a mechanistically relevant transition state stabilising factor appears to be present in the active centre of all glycoside hydrolases. *FEBS Lett.* **2003**, *538*, 1–7.
- (17) Iglesias-Fernandez, J.; Hancock, S. M.; Lee, S. S.; Khan, M.; Kirkpatrick, J.; Oldham, N. J.; McAuley, K.; Fordham-Skelton, A.; Rovira, C.; Davis, B. G. A front-face 'SNi synthase' engineered from a retaining 'double-SN2' hydrolase. *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 874–881.

(18) Vacas, T.; Corzana, F.; Jiménez-Osés, G.; González, C.; Gómez, A. M.; Bastida, A.; Revuelta, J.; Asensio, J. L. Role of aromatic rings in the molecular recognition of aminoglycoside antibiotics: Implications for drug design. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12074–12090.

(19) Li, L.; Li, C.; Zhang, Z.; Alexov, E. On the dielectric "constant" of proteins: Smooth dielectric function for macromolecular modeling and its implementation in DelPhi. *J. Chem. Theory Comput.* **2013**, *9*, 2126–2136.

(20) Crich, D.; Sun, S. Are glycosyl triflates intermediates in the sulfoxide glycosylation method? A chemical and ^1H , ^{13}C , and ^{19}F NMR spectroscopic investigation. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11217–11223.

(21) (a) van der Vorm, S.; Hansen, T.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codee, J. D. C. The influence of acceptor nucleophilicity on the glycosylation reaction mechanism. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1867–1875. (b) van der Vorm, S.; van Hengst, J. M. A.; Bakker, M.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codee, J. D. C. Mapping the Relationship between Glycosyl Acceptor Reactivity and Glycosylation Stereoselectivity. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, *57*, 8240–8244.

(22) Reactivity assays, were carried out with enantiomerically pure sulfoxides unless explicitly stated. This structural parameter was shown to have no influence on the obtained conclusions.

(23) Hou, D.; Taha, H. A.; Lowary, T. L. 2,3-Anhydrosugars in Glycoside Bond Synthesis: Mechanism of 2-Deoxy-2-thioaryl Glycoside Formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12937–12948.

(24) Kiyooka, S. I.; Kaneno, D.; Fujiyama, R. Intrinsic reactivity index as a single scale directed toward both electrophilicity and nucleophilicity using frontier molecular orbitals. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4247–4258.

(25) Bennett, C. S.; Galan, M. C. Methods for 2-Deoxyglycoside Synthesis. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 7931–7985.

